NAUNYN-SCHMIEDEBERGS

ARCHIV

FÜR

XPERIMENTELLE PATHOLOGIE UND PHARMAKOLOGIE

UNTER MITWIRKUNG
DER DEUTSCHEN PHARMAKOLOGISCHEN GESELLSCHAFT

HERAUSGEGEBEN VON

DR. L. HEILMEYER
PROFESSOR DER INNEREN MEDIZIN
FREIBURG i. Br.

DR. H. HERKEN
PROFESSOR DER PHARMAKOLOGIE
BERLIN

DR. P. HOLTZ
PROFESSOR DER PHARMAKOLOGIE
FRANKFURT

DR. L. LENDLE
PROFESSOR DER PHARMAKOLOGIE
GÖTTINGEN

232. BAND

MIT 98 TEXTABBILDUNGEN

SPRINGER-VERLAG
BERLIN · GÖTTINGEN · HEIDELBERG
1957/1958

Alle Rechte vorbehalten
Ohne ausdrückliche Genehmigung des Verlages
ist es auch nicht gestattet, einzelne Beiträge oder Teile daraus
auf photomechanischem Wege (Photokopie, Mikrokopie) zu vervielfältigen
Springer-Verlag Berlin · Göttingen · Heidelberg
Printed in Germany

Druck: Wiesbadener Graphische Betriebe GmbH

Die Wiedergabe von Gebrauchsnamen, Handelsnamen, Warenbezeichnungen usw. in dieser Zeitschrift berechtigt auch ohne besondere Kennzeichnung nicht zu der Annahme, daß solche Namen im Sinn der Warenzeichen- und Markenschutz-Gesetzgebung als frei zu betrachten wären und daher von jedermann benutzt werden dürften

Inhaltsverzeichnis

Seite

Balogh, S., s. **Herr, F.**

Balzer, H., s. **Westermann, E., P. Holtz** und **E. Wezler**

Baust, W., und **H. G. Kraatz,** Über eine calciumähnliche Wirkung von Phenylbutazon (Butazolidin) 562

Bächtold, H. P., s. **Pletscher, A.,** und **H. Besendorf**

Besendorf, H., s. **Pletscher, A.,** und **H. P. Bächtold**

Blechschmidt, W., und **W. Schoetensack,** Der Einfluß von Analeptica auf den Kreislauf der narkotisierten und nichtnarkotisierten Katze 328

Bludau, W., s. **Hasselblatt, A.**

Breton, E. le, s. **Radouco-Thomas, S. u. C. Radouco-Thomas**

Brunner, H., Die Oxytocinwirkung auf die Nierenfunktion nach Parenchymresektionen 259

Brücke, F., S. Sailer und **Ch. Stumpf,** Wechselwirkungen zwischen Physostigmin einerseits und Evipan, Procain, Largactil und Scopolamin andererseits auf die rhinencephale Tätigkeit des Kaninchens. Mit 4 Textabbildungen 433

Coper, H., Die freien Nucleotide des Gehirns nach Funktionsänderungen durch Hexachlorcyclohexan 265

Dal Ri, Methode zur fortlaufenden Registrierung der Körpertemperatur bei Laboratoriumstieren mit mechanischem Ordinatenschreiber 366

Daweke, H., und **H. Giertz,** Digitalis und Herzglykogen 293

Dengler, H., und **G. Reichel,** Die Beeinflussung der Blutdruckwirkung von Dopa und Dops durch einen Decarboxylase-Inhibitor 324

Dentzer, G., Über einige Membranwirkungen von Komplexsalzen der Äthylendiamintetraessigsäure 311

Deželić, M., s. **Stern, P.,** und **R. Košak**

Döring, H. J., und **E. Gerlach,** Säurelöslische Phosphorverbindungen des Gehirns unter dem Einfluß von Anoxie, Ischämie und narkotischen Stoffen. Mit 1 Textabbildung 271

—, s. **Hochrein, H.**

Dörner, J., W. Flacke und **C. R. Swaine,** Zur Frage der Beteiligung atropinunempfindlicher Vasodilatatoren bei der neurogenen Gefäßdilatation nach Adrenalin und Noradrenalin 306

Dudel, J., und **W. Trautwein,** Elektrophysiologische Messungen zur Strophanthinwirkung am Herzmuskel. Mit 7 Textabbildungen 393

Engelhardt, A., D. Jerchel, H. Weidmann und **H. Wick,** Verteilung und Ausscheidung von Preludin 326

Engelhorn, R., Aktionspotentiale der Nierennerven 251

Engler, R., s. **Raudonat, H. W.**

Erdmann, W. D., und **G. Schmidt,** Spezifische Antidotbehandlung bei protrahierter Vergiftung mit Alkylphosphaten an Meerschweinchen 230

—, und **D. Heye,** Analyse der erregenden und lähmenden Wirkung von Alkylphosphaten (Parathion, Paraoxon, Systox) am isolierten Kaninchendarm. Mit 4 Textabbildungen 507

Feller, K., Mechanisch-elektrischer Ordinatenschreiber 368

—, s. **Grauper, K.**

Flacke, W., s. **Dörner, J.,** und **C. R. Swaine**

Flemming, K., Untersuchungen über Schutzstoffe gegen Röntgenstrahlen bei Erythrocyten. Mit 1 Textabbildung 345

Frahm, M., Beeinflussung der Meerschweinchenatmung durch 5-Hydroxytryptamin (5-HT) 286

Friebel, H., R. Mappes und **A. v. Graevenitz,** Über krankheitsbedingte Veränderungen des Arbeitsstoffwechsels bei Ratten. Mit 6 Textabbildungen 522

Seite

—, und **E. Vreden,** Ein Gerät zur Blutdruckmessung an der Ratte. Mit 3 Textabbildungen 419
—, und **R. Mappes,** Gaswechselmessung im Arbeitsversuch bei Ratten . . . 302
Friedberg, K. D., und **F. Sakai,** Spezifischer Nachweis von Alkylphosphaten (E 600, E 605, Systox) in Blut und Gewebe bei Vergiftungen mit Hilfe eines fermentreaktivierenden Antidots (Pyridin-Aldoxim-Methjodid, PAM) 232
Frey, H.-H., Untersuchungen zum Stoffwechsel einiger intravenöser Kurznarkotica 333
Frohberg, H., Physikalisch-chemische Beeinflussung von Tumorzellen . . . 353
Gerlach, E., s. **Döring, H. J.**
Gerstenberg, E., s. **Mercker, H.,** und **W. Lochner**
Giebisch, G., O. Kraupp, B. Pillat und **H. Stormann,** Einfluß der Chloroinenkonzentration auf Ruhepotential, Kalium- und Milchsäurefreisetzung an der isoliert durchströmten Säugetiermuskulatur 314
Giertz, H., s. **Daweke, H.**
Ginzel, K. H., Die Wirkung von 5-Oxytryptaminen und Antagonisten auf den peristaltischen Reflex 287
Görisch, V., Zur Deutung einer „paradoxen" Atropinwirkung 308
Gösswald, R., s. **Wirth, W.** und **W. Vater**
Graevenitz, A. v., s. **Friebel, H.,** und **R. Mappes**
Grauper, K., und **K. Feller,** Zur Frage der Megaphenwirkung auf die Leukocytenregulation 317
Gross, F., Experimentelle Methoden zur Beurteilung blutdrucksenkender Pharmaka. Mit 5 Textabbildungen 161
—, und **H. Schmidt,** Überdosierung von Cortexon (DOC) und Kochsalz beim Kaninchen. Mit 5 Textabbildungen 408
Grosse-Brockhoff, F., Pharmakotherapie des Hochdrucks und ihre klinischen Ergebnisse. Mit 6 Textabbildungen 198
Grupp, G., Der Einfluß von Adrenalin und Nor-Adrenalin auf die Durchblutung und Wärmebildung der Niere 254
Habermann, E., Zur Pharmakologie des Giftes der brasilianischen Klapperschlange 244
Haaf, E., s. **Pirwitz, J.,** und **Th. A. Schmitt**
Haas, H., Beitrag zur Analyse des Wirkungstypus entzündungserregender Substanzen 320
—, Über die Beeinflussung des Ascorbinsäuregehaltes der Nebennierenrinde durch Reizstoffe. Mit 3 Textabbildungen 544
Haase, J., D. Lücke, F. Scheler, R. Schütz, B. Mühlberg und **W. Koll,** Die Wirkung von Cholinesterasegiften auf Reflexsysteme der tiefspinalen Katze 274
Hasselblatt, A., und **W. Bludau,** Dosis-Wirkungsbeziehungen bei Dauerinfusionen von N-4-Methyl-benzol-sulfonyl-N-butylharnstoff („Rastinon", „Artosin") am Blutzucker des Kaninchens 303
Hecht, G., Gesundheitsgefährdung durch Farbstoffe? 66
Heimburg, A. v., und **L. Schmidt,** Die coronarerweiternde Wirkung einiger Theophyllin-Präparate und ihrer Lösungsvermittler 261
Henschler, D., Toxikologische Untersuchungen an Trikresylphosphaten . . 223
Herr, F., und **S. Balogh,** Prüfung des Diffusionsvermögens einiger Lokalanaesthetica 305
—, und **S. Balogh,** Zur Theorie der Oberflächenanaesthesie. Mit 3 Textabbildungen 423

Seite

Herz, A., Über Membranwirkungen nicht-ionogener Netzmittel 341

Heye, D., s. **Erdmann, W. D.**

Hierholzer, K., Indirekte kalorimetrische Messungen an der Niere 255

Hochrein, H., und **H. J. Döring,** Das Verhalten der energiereichen Phosphate am normalen und insuffizienten Herzen und bei verschiedenen Belastungsgraden am Herz-Lungen-Präparat (HLP) des Meerschweinchens. Mit 1 Textabbildung 290

—, **H. J. Wilke** und **M. Strapazakis,** Experimentelle Insuffizienz am Herz-Lungen-Präparat des Meerschweinchens. Mit 4 Textabbildungen . . . 535

Hofmann, H. Th., Neuere Erfahrungen mit hochtoxischen Chlorkohlenwasserstoffen 228

Holtz, P., s. **Westermann, E., H. Balzer** und **E. Wezler**

Hotovy, R., und **E. Roesch,** Zur Pharmakologie der Kreislaufwirkung von 5-Hydroxytryptamin. Mit 6 Textabbildungen 369

Höfler, W., Einstellbewegungen der Sauerstoffaufnahme unter verschiedenen Sauerstoffspannungen (Untersuchungen an Pflanzengewebe) 361

Jacobi, G., s. **Scheler, F.** und **W. Koll**

Jacobi, H., s. **Pfleger, K.,** und **W. Rummel**

Janssen, S., Die Wirkung von Hinterlappenhormonen auf die Wärmebildung von Rinde und Mark der Niere 252

Jerchel, D., s. **Engelhardt, A., H. Weidmann** und **H. Wick**

Klimmer, O. R., Toxikologie der Schädlingsbekämpfungsmittel 31

Klingmüller, O., Durchlässigkeit der Cornea für verschiedene Arzneimittel . 340

Klingmüller, V., und **G. Strohmeyer,** Entgiftung aromatischer Säuren nach dem Glutaminsäureprinzip 245

Koch, R., Cancerogene als Sensibilisatoren bei röntgenbestrahlten Tieren. Mit 1 Textabbildung 347

Koll, W., s. **Haase, J., D. Lücke, F. Scheler, R. Schütz** und **B. Mühlberg**

—, s. **Scheler, F.** und **G. Jacobi**

Koransky, W., Isolierung und Identifizierung eines Adeninnucleotids mit neurotropen Wirkungen 266

Košak, R., s. **Stern, P.,** und **M. Deželić**

Kramer, M., Zur antiphlogistischen Wirkung des Histaminliberators Compound 48/80 und einiger Antihistamica 319

Kraupp, O., s. **Giebisch, G., B. Pillat** und **H. Stormann**

Kraatz, W., s. **H. G., W. Baust,** Über eine calciumähnliche Wirkung vonPhenylbutazon (Butazolidin) 562

Kreppel, E., Zur quantitativen Bestimmung von Adrenalin-Nor-Adrenalin-Gemischen 322

Kroneberg, G., und **H. J. Schümann,** Über die Wirkung des Reserpins auf das Nebennierenmark 278

Kunz, W., Die Wirkung von N-Sulfanilyl-N-Butylcarbamid auf Stoffwechsel und Wachstum von Transplantationstumoren 350

Kunze, H., s. **Siess, M.**

Kukovetz, W., Über die Leistungsreserve des hypothermen Herzmuskels am Herz-Lungen-Präparat der Ratte 292

Kuriaki, K., s. **Naito, T.**

Kühn, G., Die Wirkung des N-p-Chlorphenyl-2,4-diamino-s-triazins auf die Kochsalzausscheidung der Ratte. Mit 2 Textabbildungen 263

Lang, K., Das Problem der Lebensmittelzusätze 48

Lange, G., Calorimetrische Methode zur Messung der Herzmuskeldurchblutung 288

Seite

Leuschner, F., Über die celluläre Bindung und Umsetzung des Salyrgans in Beziehung zur Diurese 249

Lichtlen, P., s. **Meier, R.**

Lochner, W., s. **Mercker, H.,** und **E. Gerstenberg**

Luthardt, Th., Stoffwechsel und Atemgrößen in ihrer Beziehung zur Körpertemperatur (Basaltemperatur) im Menstruationscyclus 363

Lücke, D., s. **Haase, J., F. Scheler, R. Schütz, B. Mühlberg** und **W. Koll**

Lüllmann, H., und **W. Pracht,** Der Einfluß von Acetylcholin, Dekamethonium und d-Tubocurarin auf das Membranpotential denervierter Rattenzwerchfelle 310

Maibauer, D., Über die Leberverfettung nach Äthionin 234

Markwardt, F., Versuche zum Reaktionsmechanismus des Hirudins 343

—, Die quantitative Bestimmung des Prothrombins durch Titration mit Hirudin. Mit 4 Textabbildungen 487

Mappes, R., s. **Friebel, H.**

—, s. **Friebel, H.,** und **A. v. Graevenitz**

Meier, R., und **P. Lichtlen,** Allgemeine Probleme der experimentellen Hypertension. 137

—, s. **Tripod, J.**

Mercker, H., W. Lochner und **E. Gerstenberg,** Arterielle und venöse Sauerstoffsättigungen bei Cyanidvergiftung 289

—, **W. Lochner** und **E. Gerstenberg,** Untersuchungen über das Verhalten des Kreislaufes, der Atmung und der Sauerstoffsättigung des Blutes bei Cyanidvergiftung. Mit 4 Textabbildungen 459

Moog, E., s. **Zetler, G.**

Mühlberg, B., s. **Haase, J., D. Lücke, F. Scheler, R. Schütz** und **W. Koll**

Nádor, K., Hochaktive ganglionblockierende Tropiniumverbindungen . . . 310

Naito, T., und **K. Kurlaki,** Die Verteilung der Histidindecarboxylase in verschiedenen Gebieten des Zentralnervensystems und Effekte einiger Narkotica und Analeptica auf die Enzymaktivität. Mit 1 Textabbildung 481

Neubert, D., Enzymatische Leistungen der Lebermikrosomen bei der Äthioninvergiftung. Mit 2 Textabbildungen 235

Neumann, W., Gegenwartsprobleme der Toxikologie 12

Oberdorf, A., und **R. Schunk,** Untersuchung über Methyl-Äthyl-Glutarsäureimid 331

Oettel, H., Gesundheitsgefährdung durch Kunststoffe? Mit 9 Textabbildungen 77

Peters, G., und **H. Vorherr,** Akute morphologische Veränderungen der Nieren bei osmotischer Diurese 248

Pfleger, K., H. Jacobi und **W. Rummel,** Glucose- und Phosphatresorption am isolierten Darm 300

Pfennigsdorf, G., und **W. Ponsold,** Probleme der Milchvitaminierung . . . 359

Pichotka, I., Die Stoffwechselgröße von Pflanzengewebe in Abhängigkeit von der Temperatur 360

Pillat, B., s. **Giebisch, G., O. Kraupp** und **H. Stormann**

Pirwitz, J., E. Haaf und **Th. A. Schmitt,** Die colorimetrische Bestimmung von ADP und ATP im menschlichen Blut. Mit 2 Textabbildungen 387

Pletscher, A., H. Besendorf und **H. P. Bächtold,** Benzo [a] chinolizine, eine neue Körperklasse mit Wirkung auf den 5-Hydroxytryptamin- und Noradrenalin-Stoffwechsel des Gehirns. Mit 3 Textabbildungen 499

Ponsold, W., s. **Pfennigsdorf, G.**

Seite

Pracht, W., s. **Lüllmann, H.**

Radouco-Thomas, S., C. Radouco-Thomas et **E. le Breton,** Action de la Noradrénaline et de la Réserpine sur l'Analgésie expérimentale. Mit 1 Textabbildung 279

Radouco-Thomas, C., s. **Radouco-Thomas, S.,** und **E. le Breton**

Raudonat, H. W., und **R. Engler,** Ausscheidungsprodukte des k-Strophanthin-γ und des Thevetins nach oraler Verabfolgung bei Ratten 295

Reichel, G., s. **Dengler, H.**

Reichertz, P., und **H. F. Zipf,** Optische und akustische Darstellung einer zweimal hintereinander herbeigeführten totalen Endoanaesthesie der Lungenreceptoren 367

—, s. **Zipf, H. F.**

Reinert, H., Zum Wirkungsmechanismus der Amphetamine 327

Reiter, M., Kalium- und Natriumgehalt des isolierten Herzmuskels in Abhängigkeit von der äußeren Calciumkonzentration 298

Remmer, H., Der Einfluß von Steroidhormonen auf den Abbau von Evipan bei der Ratte 268

Repke, K., Über den Stoffwechsel des Digitoxins bei der Ratte 295

Rodegra, H., s. **Röder, G.,** und **K. Soehring**

Rodegra, H., G. Röder, H. J. Schmermund und **K. Soehring,** Wirkung von 5-Hydroxytryptamin auf die isolierte Nabelschnurarterie 285

Röder, G., H. Rodegra und **K. Soehring,** Registrierung von Mechanogrammen mit Hilfe einer einfachen Photozellenanordnung 366

—, s. **Rodegra, H., H. J. Schmermund** und **K. Soehring**

Roesch, E., s. **Hotovy, R.**

Rummel, W., s. **Pfleger, K.,** und **H. Jacobi**

Sailer, S., und **Ch. Stumpf,** Weitere Hinweise auf den cholinergen Mechanismus der „arousal reaction" 277

—, s. **Brücke, F.,** und **Ch. Stumpf**

Sakai, F., s. **Friedberg, K. D.**

Schaumann, W., Unwirksamkeit von Ganglienblockern gegenüber einzelnen Wirkungen peripherer Vagusreizung 309

Scheler, F., G. Jacobi und **W. Koll,** Untersuchung zur Frage der Differenzierung von sogenannten Hirnstamm- und Hirnrindennarkotica an labyrinthektomierten Katzen 270

—, s. **Haase, J., D. Lücke, R. Schütz, B. Mühlberg** und **W. Koll**

Schmermund, H. J., s. **Rodegra, A., G. Röder** und **K. Soehring**

Schmid, W., Zur Frage der Normalisierung des Tumorstoffwechsels durch Glykolysegifte 351

Schmidt, L., Pharmakologische Wirkungen einiger Lösungsmittel und Lösungsvermittler 260

—, s. **Heimburg, A. v.**

Schmidt, G., s. **Erdmann, W. D.**

Schmidt, H., s. **Gross, F.**

Schmitt, Th. A., s. **Pirwitz, J.** und **E. Haaf**

Schreiber, G., s. **Schoetensack, W.**

Schoetensack, W., und **G. Schreiber,** Zur Physiologie und Pharmakologie der Veratraminerregung 335

—, s. **Blechschmidt, W.**

Scholz, J., Über Erfahrungen mit verschiedenen Methoden zur Ermittlung der Haut- und Schleimhautverträglichkeiten von Chemikalien 241

Schunk, R., s. **Oberdorf, A.**

Seite

Schümann, H. J., Über die Speicherung von Adrenalin und Noradrenalin in den chromaffinen Granula des Nebennierenmarks und den Einfluß des Reserpins und Insulins 284

—, s. **Kroneberg, G.**

Schütz, E., Der Einfluß von Polyäthylenglykol 400 auf die percutane Resorption von Wirkstoffen. Mit 1 Textabbildung 237

Schütz, R., s. **Haase, J., D. Lücke, F. Scheler, B. Mühlberg** und **W. Koll**

Senft, G., Qualitative und quantitative Beziehungen zwischen Nebennierenrinde und Neurohypophyse bei der Regulation des Wasser- und Salzhaushaltes 256

Siess, M., und **H. Kunze,** Kontraktion und Erschlaffung des Rattenzwerchfells als Fasermodell 312

Soehring, K., s. **Röder, G.,** und **H. Rodegra**

—, s. **Rodegra, H., G. Röder** und **H. J. Schmermund**

Stern, P., M. Deželić und **R. Košak,** Über die analgetische und antipyretische Wirkung von k-Vitamin und Dicumarol mit besonderer Berücksichtigung des 4-Hydroxycumarins 356

Stormann, H., s. **Giebisch, G., O. Kraupp** und **B. Pillat**

Strapazakis, M., s. **Hochrein, H.,** und **H. J. Wilke**

Strohmeyer, G., s. **Klingmüller, V.**

Stumpf, Ch., s. **Sailer, S.**

—, s. **Brücke, F.,** und **S. Sailwr**

Sund, H., s. **Wallenfels, K.**

Tauberger, G., Zur Pharmakologie eines neuen insecticiden chlorierten Kohlenwasserstoffes 227

Trautwein, W., s. **Dudel, J.**

Tripod, J., und **R. Meier,** Charakterisierung des pharmakodynamischen Wirkungsspektrums blutdrucksenkender Stoffe 470

Vater, W., s. **Wirth, W.** und **R. Gösswald**

Vorherr, H., s. **Peters, G.**

Vreden, E., s. **Friebel, H.**

Wallenfels, K., und **H. Sund,** Zum Wirkungsmechanismus des Butazolidins: Hemmung DPN-abhängiger Zinkenzyme 338

Weidmann, H., s. **Engelhardt, A., D. Jerchel** und **H. Wick**

Westermann, E., (mit **P. Holtz, H. Balzer** und **E. Wezler**), Beeinflussung der Serotoninwirkung durch Hemmung der Monoaminoxydase (Beziehungen zum Mechanismus der Reserpinwirkung) 282

Welzer, E., s. **Westermann, E., P. Holtz** und **H. Balzer**

Wick, H., s. **Engelhardt, A., D. Jerchel** und **H. Weidmann**

Wilke, H. J., s. **Hochrein, H.,** und **M. Strapazakis**

Wirth, W., R. Gösswald und **W. Vater,** Zur Pharmakologie acylierter Phenothiazin-Derivate 316

Zeller, H., Zur Prüfung epidermal sensibilisierender Stoffe im Tierversuch . 239

Zetler, G., und **E. Moog,** Die Bulbocapnin-Katatonie, ihre Synergisten und Antagonisten. Mit 1 Textabbildung 442

Zipf, H. F., und **P. Reichertz,** Zur Auswertung von Endoanaesthetica durch Wirkung/Zeit-Kurven 304

—, s. **Reichertz, P.**

A. Eröffnungsansprache zur 23. Tagung der Deutschen Pharmakologischen Gesellschaft

in Freiburg/Br. vom 13. bis 15. Juni 1957

P. Holtz (Frankfurt/M.): Als derzeitiger Vorsitzender unserer Gesellschaft begrüße ich Sie auch im Namen des Vorstandes. Mein Willkommengruß gilt ganz besonders den Kollegen aus dem Osten unseres Vaterlandes. Gruß und Dank für ihr Kommen gilt auch unseren ausländischen Gästen. Besonders herzlich möchte ich unserem Gastgeber, Herrn Kollegen Janssen, für die Gastfreundschaft danken, die uns während dieser Tage hier erwartet —, in einer Stadt, die bald das 500jährige Bestehen ihrer *Universität* begehen wird, an der als Vorgänger unseres verehrten Gastgebers Paul Trendelenburg und Walter Straub unser Fach vertraten. Der eine von ihnen — Walter Straub — war Mitbegründer unserer Gesellschaft, die nunmehr auf ein 36jähriges Bestehen zurückblickt und 1921 ihre zweite Tagung hier in Freiburg abhielt.

Wenn wir seit unserer letzten Tagung — in *Graz* — eine ungewöhnlich lange Zeit, fast 2 Jahre, haben vergehen lassen, so hat das seinen Grund darin, daß wir im vergangenen Jahr am internationalen Physiologenkongreß in *Brüssel* teilnahmen, dessen letzter Tag pharmakologischen Problemen gewidmet war. Man kann verschiedener Meinung darüber sein, ob es noch zweckmäßig ist, wissenschaftliche Tagungen solchen Ausmaßes zu veranstalten, wie es der Brüsseler Kongreß hatte mit einer Tagungsdauer von einer Woche, mit ungefähr 15 Parallelsitzungen und einer Teilnehmerzahl von mehreren Tausend. Andererseits ist es schon lehrreich, das *Programm* einer solchen großen Tagung zu studieren, da es eine Übersicht über die augenblicklichen Brennpunkte der wissenschaftlichen Forschung in den einzelnen Ländern und Arbeitskreisen vermittelt, die besonders deutlich werden in den Themen der großen Referate und der Symposien.

Schwerpunkte waren unter anderem Probleme der *Neuro- und Psychopharmakologie*, insbesondere der Physiologie und Pharmakologie der Formatio reticularis des Hirnstamms; die Bedeutung körpereigener Wirkstoffe und Überträgerstoffe nervöser Erregungen für den normalen und pathologischen Ablauf *cerebraler* Funktionen und des Eingreifens bestimmter Pharmaka in das dem Funktionellen zugrunde liegende *stoffliche* Geschehen, wobei dem *5-Oxytryptamin* oder *Serotonin* besonderes Interesse galt.

So kommen auch die Schwerpunkte *unseres* Programms auf dieser Tagung in den Themen der vorgesehenen Referate zum Ausdruck. Beide Themen — das des heutigen ersten und das des letzten Tages — legen Zeugnis davon ab, wie sehr die Pharmakologie, die als „akademisches" Fach zu den sogenannten *theoretischen* Fächern der Medizin gehört, als angewandte Wissenschaft von *eminent praktischer* Bedeutung ist für alle Gebiete und Disziplinen der Medizin, der Therapie und Gesundheitsfürsorge. So sehr es zutrifft, daß die *Physiologie* und *Physiologische Chemie* uns wichtige Grundlagen des wissenschaftlichen Denkens und methodischen Vorgehens geben, so sehr unterscheidet sich die *Pharmakologie* doch von diesen Fächern darin, daß sie in viel höherem Maße sowohl in Forschung als Unterricht auf die Belange des *Arztes* ausgerichtet ist: auf die Erfordernisse der *Arzneitherapie* und den *Schutz vor Vergiftungen.*

Die Referate des letzten Tages über die Pharmakotherapie des Hochdrucks werden eindringlich vor Augen führen, wie sehr die Erforschung der Krankheits*ursachen*, der *Pathogenese*, ein Anliegen auch des *Pharmakologen* sein muß, da sie die Voraussetzung für die Auffindung von Arzneimitteln ist, die eine *kausale* Therapie ermöglichen —, und wie weit wir von diesem Ziel noch entfernt sind, besonders auf dem Gebiete der sogenannten *essentiellen Hypertonie*, trotz unseres Wissens von Wirkstoffen und Reaktionsmechanismen, die wie z. B. das *Nor-adrenalin* der sympathischen Nerven und das *Renin-Hypertensinsystem* die stoffliche Grundlage des pathologischen Geschehens sein könnten.

Die Referate des *heutigen* Tages befassen sich mit *exogenen*, „*accidentellen*" Stoffen, die zur Ursache pathologischer Störungen und tödlicher Wirkungen werden können, und durch die moderne Entwicklung unserer Zivilisation und Technik als *Gifte* größte praktische Bedeutung gewonnen haben: mit der *Toxikologie* von Farbstoffen und sogenannten Kunststoffen, wobei das Problem der *cancerogenen* Wirkung eine besondere Rolle spielen wird, sowie der Toxikologie der Schädlingsbekämpfungsmittel und dem besonders aktuellen Problem der Lebensmittelzusätze. Auf diesem theoretisch wie praktisch wichtigen Teilgebiet pharmakologischer Forschung wird uns nicht nur die *akute* Giftwirkung einmaliger großer Gaben beschäftigen, sondern in gleichem Maße die *chronische* Auswirkung kleiner und kleinster Giftmengen, die Tag für Tag in den Organismus gelangen oder auf ihn einwirken. Vor genau einem halben Jahrhundert, 1907, übernahm Walter Straub hier in Freiburg den neugegründeten Lehrstuhl der Pharmakologie. Er hielt seine Antrittsvorlesung über das Thema: „Gift und Organismus."

Ich danke den Kollegen, die sich bereit fanden, uns zu den einzelnen Themen Referate zu erstatten.

Der 2. Tag schließlich steht ganz für freigewählte *Kurzvorträge* zur Verfügung und gibt auch den *jüngeren* Kollegen die Möglichkeit, über das zu berichten, was sie seit dem letzten Mal erarbeitet und erforscht haben.

Ich bedaure es, daß wir bei der Fülle der Anmeldungen — es sind mehr als 70 für den zweiten Tag — genötigt waren, für diesen Tag Parallelsitzungen in mehreren Hörsälen vorzusehen. Die Frage, die sich aufdrängt, ist: ob es nicht sinnvoll wäre, in Zukunft den *Referaten* weniger Zeit einzuräumen, indem man ihnen vielleicht nur *einen* Tag konzedierte und damit der Tagung das Gesicht gäbe, damit für die *Kurzvorträge* und die Diskussion mehr Zeit zur Verfügung steht. Aber auch so hoffe ich, daß wir bei einiger Disziplin unser großes Programm bewältigen werden.

So möge denn in diesen Tagen der Geist der Wissenschaft wie ein Strom sich über uns alle ergießen.

Bevor wir aber diesem Strom freien Lauf lassen, geziemt es sich, unserer Toten zu gedenken.

Seit unserer letzten Tagung verloren wir Eduard Keeser, der nach langer, schwerer Krankheit im 64. Lebensjahr in *Hamburg* starb. Aus schwäbischem Geschlecht stammend, am 27. Juni 1892 in *Elberfeld* als der Sohn eines Pfarrers geboren, absolvierte er das städtische Gymnasium in *Düsseldorf*, dessen kulturell aufgeschlossene und anregende Atmosphäre vor dem ersten Weltkrieg neben der religiös verankerten Atmosphäre des Elternhauses den empfänglichen und begeisterungsfähigen jungen Menschen wesentlich prägten. Nach einigen Bonner und Tübinger Semestern legte er in Berlin an der Militärärztlichen Akademie das medizinische Staatsexamen ab, war während des Krieges an Lazaretten tätig und promovierte nach Kriegsende — 1920 — bei His in Berlin, der damals die I. Medizinische Klinik der Charité leitete, mit einer Arbeit „Über die Pharmakodynamik des Jods". Zeitlebens hat er seinem klinischen Lehrer hohe Verehrung bewahrt und gerne an die Jahre seiner eigenen klinischen Tätigkeit zurückgedacht. Sie sind ihm zu

einem so tiefen Erlebnis geworden, daß er später den ärztlichen Kontakt zum kranken Menschen nicht entbehren mochte und in *Hamburg* als Vertreter eines theoretischen Faches der Medizin auch *ärztlich* tätig war —, ein seltener Fall unter den Pharmakologen. Für den beruflichen *Lebensweg* KEESERS ist charakteristisch, daß er über die *Klinik* zur Pharmakologie kam, und für sein wissenschaftliches *Werk*, daß seine Arbeiten unmittelbare Beziehungen zu klinischen Fragestellungen haben.

Das Bestreben, in die wissenschaftlichen Grundlagen der *medikamentösen Therapie* tiefer einzudringen, veranlaßte ihn, nach einer gründlichen Ausbildung in der *physikalischen Chemie* bei HABER auf dessen Anraten 1923 zu ARTHUR HEFFTER ans Pharmakologische Institut zu gehen. Während der Assistentenzeit bei HEFFTER, den auf Grund starker chemischer Neigungen neben den *Wirkungen* die *Umsetzungen* der Stoffe im Organismus interessierte, entstanden eine Reihe von Arbeiten über die Verteilung und das Schicksal der Arzneimittel im Körper. Besonderes Aufsehen erregten Untersuchungen, die das Ziel hatten, eine elektive Anhäufung der *Schlafmittel* in bestimmten subcorticalen Regionen des Gehirns nachzuweisen, denen wir heute die Funktion eines Schlafsteuerungszentrums zuschreiben. Es war die Zeit, in der die Wiener Pharmakologenschule unter E. P. PICK nach *funktionellen* Gesichtspunkten zwischen Hirn*rinden-* und Hirn*stamm*-Mitteln zu unterscheiden versuchte.

Daneben übernahm KEESER die Bearbeitung mehrerer Kapitel des soeben von HEFFTER begründeten Handbuchs der experimentellen Pharmakologie, so die Pharmakologie der Hydrastis- und Kakteen-Alkaloide, denen HEFFTER selbst in seiner Leipziger Zeit gründliche Untersuchungen gewidmet hatte, die zur Isolierung einer Anzahl von Alkaloiden, unter ihnen des *Mezkalins* führten. — Die handbuchmäßige Bearbeitung der Pharmakologie und Toxikologie des *Arsens* und seiner Verbindungen löste eigene experimentelle Untersuchungen zur Frage der Arsengewöhnung und über Entgiftungsmöglichkeiten im Organismus aus. Das Interesse an toxikologischen und gewerbetoxikologischen Fragen mag mitgespielt haben, daß er, am Berliner Institut habilitiert, nach HEFFTERS Tode als Referent ans *Reichsgesundheitsamt* ging, dessen Pharmakologische Abteilung damals von Geheimrat ROST geleitet wurde.

1930, mit 38 Jahren, folgte er der Berufung auf den *Rostocker* Lehrstuhl als Nachfolger von ERNST FREY, der nach Göttingen ging. Die Rostocker Zeit ist gekennzeichnet durch eine größere Zahl toxikologischer Arbeiten, unter denen die über die Ursache der Giftigkeit des *Methylalkohols* und die Therapie der *Methylalkoholvergiftung* hervorragen. Sie führten ihn zu der Überzeugung, daß die spezifische Giftwirkung, vor allem die für Methanol typischen Veränderungen am Augenfundus nicht dem intakten Molekül, sondern dem bei langsamer Oxydation intermediär sich bildenden Formaldehyd zukommen. Der von KEESER gedanklich und experimentell begründeten Therapie der Vergiftung mit Ammoniumcarbonat, die sich auch in klinischen Fällen bewährt zu haben scheint, liegt die Vorstellung zugrunde, einerseits die *Acidose* zu bekämpfen und andererseits Formaldehyd in ungiftiges *Hexamethylentetramin* überzuführen.

Nach 3 Jahren *Rostocker* Tätigkeit nahm er eine Berufung nach *Hamburg* als Nachfolger von BORNSTEIN an. Das Vertrauen seiner Kollegen übertrug ihm das Amt des Dekans seiner Fakultät und des Rektors der Hamburger Universität, der er durch 23 Jahre hindurch bis zu seinem Tode gedient hat. — Schon während seiner Berliner Assistentenzeit hatte ihn das *Cholesterin* und seine Ester interessiert. Jetzt in Hamburg wurden die Untersuchungen über den Cholesterinstoffwechsel fortgeführt und zu klinischen Problemen der Ätiologie und Therapie der *Arteriosklerose* in Beziehung gesetzt. Letzte experimentelle Arbeiten befaßten sich mit der pharmakologischen Beeinflussung der reversiblen Dehnbarkeit von Arterien.

So ist er sein Leben lang bemüht gewesen, von klinisch-ärztlicher Sicht aus sich ergebende Probleme und Fragestellungen durch die Erarbeitung und Festigung der wissenschaftlichen Grundlagen der Lösung näherzubringen.

In Eduard Keeser betrauern wir einen besonders liebenswürdigen Kollegen, der durch sein konziliantes und doch zurückhaltendes Wesen sich Sympathien erworben hat.

Noch nicht 55 Jahre alt war Werner Keil, als er am 31. Oktober 1956 in *Höchst* bei Frankfurt den Kreislaufstörungen, die sich während eines schweren chronischen Rheumatismus eingestellt hatten, erlag. Mit ihm verknüpften mich persönliche Erinnerungen an gemeinsame *Greifswalder* Assistentenjahre. Als ich 1929 als junger Assistent zu Wels ans Greifswalder Institut ging, war Werner Keil Assistent bei Fritz Wrede, der damals die Physiologische Chemie in Greifswald vertrat. Stark entwickelte naturkundliche Neigungen — er war ein ausgezeichneter Pilz- und Käferkenner — hatten ihn, der in *Vorsfelde* bei Braunschweig als Sohn eines Beamten an der dortigen Staatsanwaltschaft geboren wurde, zunächst zum *Chemie*studium getrieben, an das er unter dem Einfluß Dankwart Ackermanns in Würzburg das Studium der Medizin anschloß.

1931, mit 29 Jahren, nahm er eine ihm von Eichholtz, damals in *Königsberg*, angebotene Assistentenstelle an und wechselte so von der Physiologischen Chemie zur Pharmakologie über. Schon 1 Jahr später habilitierte er sich, übernahm bald darauf, als Eichholtz nach Heidelberg ging, die kommissarische Leitung des Königsberger Instituts und war dann noch 2 Jahre bei Eichholtz in Heidelberg, bevor er Leiter des Pharmakologischen Instituts der I. G. Farben in Oppau wurde. Aus seiner Heidelberger Zeit stammen interessante Arbeiten über die Acetylcholinbildung durch Bakterien, durch das von ihm entdeckte Bact. Acetylcholini, in sauer vergorenem Sauerkraut- und Gurkensaft. Seine chemische Grundausbildung befähigte ihn, in Oppau während des zweiten Weltkrieges mit einem größeren Mitarbeiterstab wichtige Arbeiten über die Physiologie und Toxikologie synthetischer Fette und Fettsäuren mit verzweigter Kohlenstoffatomkette und ungerader C-atomanzahl durchzuführen. — 1950 übernahm er die Leitung des Pharmakologischen Laboratoriums der Rheinpreußen AG. in *Moers-Meerbeck*, war gleichzeitig Honorarprofessor an der Universität *Münster* und siedelte 1 Jahr vor seinem Tode, als die Rheinpreußen AG. von den Farbwerken übernommen wurde, nach *Höchst* über. Hier wandte er sich wieder einem Arbeitsgebiet seiner Heidelberger Assistentenjahre zu, der Pharmakologie und Toxikologie der Lokalanaesthetica, des Oxy-procains und der Ester der p-Aminosalicylsäure.

So ist auch Werner Keils berufliche Laufbahn ein Beispiel für die mannigfache Verflochtenheit unseres Faches mit zahlreichen Nachbarfächern und Grenzgebieten, für die mannigfachen Quellen, aus denen die Pharmakologie sich speist. — Wir trauern um den zu früh Dahingegangenen.

Erst spät erreichte uns die Kunde vom Tode Hans Schlossmanns, der am 7. September 1956 in seiner Heimatstadt *Düsseldorf* auf der Straße von einem Herzschlag überrascht wurde. Er war der Sohn des Düsseldorfer Pädiaters, hatte bei Rudolf Gottlieb in Heidelberg als Volontär gearbeitet und ging 1925 mit Hildebrandt nach Düsseldorf, wo er sich 1927 habilitierte. Er blieb dann noch eine Zeitlang bei Philipp Ellinger und fand, als er wie viele andere sein Vaterland verlassen mußte, auf Einladung Barcrofts in *Cambridge* Zuflucht. Aus dieser Zeit stammt eine zusammen mit Blaschko veröffentlichte, grundlegend wichtige Arbeit über den enzymatischen Abbau biogener Amine durch die *Monoaminoxydase*. Nach dem Kriege hat er wiederholt an unseren Tagungen teilgenommen und hielt 1948

auf unserer Tagung in *Düsseldorf* einen interessanten Vortrag über Beziehungen zwischen *Arzneiwirkung und Alter*, in dem er eine Erklärung dafür zu geben versuchte, daß der jugendliche Organismus auf zahlreiche Gifte quantitativ und qualitativ anders reagiert als der ältere. Wir haben es ihm hoch angerechnet, daß er, EK I-Träger des ersten Weltkrieges — gleich Otto Riesser — Unrecht, das ihm selbst widerfuhr, vergessen konnte und nicht entgelten ließ. Wir werden ihm, der nun in der Erde seiner Heimat ruht, ein herzliches Andenken bewahren.

Am 6. Mai vorigen Jahres verstarb im Alter von 69 Jahren das Mitglied unserer Gesellschaft, Herr Dr. Friedrich Carl Engelhorn, Mitinhaber der Firma Boehringer-Mannheim, der für seine Verdienste um die Förderung der wissenschaftlichen Forschung von der Universität Marburg mit der Philipps-Medaille ausgezeichnet worden war. Als eines Förderers der Wissenschaft bewahren wir sein Gedächtnis.

Wie viel frischer und schmerzhafter aber ist die Wunde, die der Tod schlug, als er uns *den* nahm, der durch Jahrzehnte hindurch wahrhaft der *Bannerträger* der deutschen Pharmakologie war, der sich noch von ihren Begründern herleitete, dessen Persönlichkeit auch die Atmosphäre unserer Tagungen maßgeblich schuf, und dem viele von uns seit langem ein Denkmal der Liebe und Verehrung in ihren Herzen errichtet hatten.

Am 26. Februar 1957 starb nach kurzer Krankheit in Heidelberg, wo er seit seiner Emeritierung lebte, der Nestor der Deutschen Pharmakologie, Wolfgang Heubner.

Wolfgang Heubner wurde am 18. Juni 1877 in Leipzig als Sohn des damaligen Professors der inneren Medizin, des nachmaligen Leipziger und Berliner Ordinarius der Kinderheilkunde — Otto Heubner — geboren. In seinem 17. Lebensjahr siedelten die Eltern nach Berlin über. Er hatte die Leipziger Thomasschule, anschließend das Joachimsthaler Gymnasium in Berlin besucht und widmete sich nach dem Abitur dem Medizinstudium in Göttingen, Berlin, Marburg und *Straßburg*. Hier legte er mit 24 Jahren — 1901 — das medizinische Staatsexamen ab. Für seine berufliche Lebensgestaltung wurde ein Mann bestimmend, der — als er vor 36 Jahren, 1921, als 83jähriger starb —, fast ein halbes Jahrhundert lang der anerkannte Führer der Pharmakologie gewesen war: in Deutschland und in der Welt.

Obwohl ihn, wie er in seinen „Erinnerungen an Oswald Schmiedeberg" sagt, innere Neigung sehr stark zur physiologischen Chemie zog, die damals Franz Hofmeister in Straßburg vertrat, wurde er durch Schmiedebergs Vorlesung und Persönlichkeit so gefesselt, daß er dessen Fach vorzog und die Pharmakologie zum Lebensberuf erwählte. Hierbei sprach auch mit, daß die Pharmakologie häufiger als die Physiologische Chemie zur Beobachtung und zum Experiment unmittelbar am lebenden Tier genötigt ist. „Dies war" — so schreibt er — „ein Vorzug in meinen Augen; denn die sogenannten animalen Funktionen des lebenden Organismus interessierten mich ebenso sehr wie sein Chemismus".

1903 promovierte er bei Schmiedeberg mit einer Untersuchung über „Die Spaltung des Fibrinogens bei der Blutgerinnung", in der er an Hand eigener Versuche zu den damals von Alexander Schmidt und Olaf Hammarsten diskutierten Möglichkeiten kritisch Stellung nahm, ob der Fibrinbildung der *Zusammentritt* zweier Eiweißkörper des Plasmas — eines sogenannten Paraglobulins und des Fibrinogens — oder eine *Aufspaltung* des Fibrinogenmoleküls zugrunde liege. Er wurde Assistent am Straßburger Institut und habilitierte sich mit 30 Jahren — 1907 —, nachdem er für $1^1/_2$ Jahre in die Chemie zu Richard Willstätter nach Zürich und München gegangen war und sich hier an Arbeiten über die Isolierung von Solanaceen-alkaloiden beteiligt hatte.

Der Titel der Habilitationsschrift lautete: „*Über Vergiftung der Blutcapillaren.*" Sie befaßt sich mit der capillarschädigenden Wirkung von *Goldsalzen* und anderen Schwermetallsalzen, sowie ihrer Einwirkung auf einzellige Organismen. Die Frage der Speicherung in den Zellkernen spielte eine Rolle und auch sonst klingen schon Themen an — *Gift, Capillargift, Schwermetallwirkungen* —, die sich später zu eigenen Arbeitsgebieten auswuchsen. — Von seinem Lehrer sagt er: „Die Hochschätzung des Methodischen entsprach seinem ganzen angeborenen und anerzogenen Wesen des strengen Naturforschers mit ausgesprochen kritischer Veranlagung. Er prägte seinen Schülern im Laboratorium immer wieder den *Zweifel* an Behauptungen ein, die nicht durch eigene Beobachtungen bestätigt waren." Paul Diepgen, der Medizinhistoriker, sagt einmal: „Mit der wissenschaftlichen Kinderstube ist es das gleiche wie mit der Erziehung im Elternhaus. Sie wirkt das ganze Leben nach, auch wenn im Laufe der Jahre noch soviel neue Eindrücke auf den Menschen einstürmen."

In die 5 Straßburger Assistenten- und Dozentenjahre fällt die Heirat mit Lisa Lutteroth aus Leipzig, die ihm bis zum Ende seines Lebens eine treue Gefährtin war. 1908 — Heubner war 31 Jahre alt — siedelte das junge Paar nach Berlin über. Er habilitierte sich um mit einer Vorlesung über „*Vergiftung und Krankheit*" und wurde Assistent bei Arthur Heffter. Berlin war aber nur kurze Episode. Noch im gleichen Jahr — 1908 — erfolgte die Berufung des 31jährigen auf den Göttinger Lehrstuhl als Nachfolger von Karl Jakoby.

Göttingen wurde dann zu einer 20 Jahre dauernden Lebens- und Arbeitsperiode, in der die großen Arbeitsgebiete sich abzeichnen, die sich heute mit seinem Namen verknüpfen. Erste Arbeiten aus dieser Zeit befassen sich mit dem *Kalk-* und *Phosphor*gehalt von Nahrungsmitteln und tierischen Organen nach verschiedenartiger Fütterung, sowie mit der Ausscheidung von Phosphaten. Die enge Nachbarschaft zu Adolf Windaus weckt Jahre später erneut das Interesse an Fragen des *Mineralstoffwechsels*: es entstehen Untersuchungen über die antirachitische und Arterienwirkung bestrahlten Ergosterins sowie über die Pharmakologie und Toxikologie des *Calciums*. — Andere Arbeiten haben die Frage der pharmakologisch wirksamen Zustandsform und der Wirkungsweise der *Schwermetalle* — des *Quecksilbers* und des *Eisens* in seinen verschiedenen Wertigkeits- und Bindungsformen — zum Gegenstand.

Dem einmal zum Erklingen gebrachten Thema „Blut und Eisen" sind dann in der Folgezeit Untersuchungen über die *Pathologie des roten Blutfarbstoffs* gewidmet, die für immer und in ganz besonderem Maße mit dem Namen Heubner verknüpft bleiben werden und ihn in der ganzen wissenschaftlichen Welt bekannt gemacht haben: seine Arbeiten über den Wirkungsmechanismus *methämoglobinbildender Gifte*, die unter anderem zu der Erkenntnis führten, daß der Methämoglobin- oder Hämiglobinbildung z. B. durch *Aminophenole* ein *katalytischer* Kreislaufprozeß zugrunde liegt mit einem Wechselspiel verschiedener Oxydationsstufen, deren niedrigste das *Hydroxylamin* ist. Wie sehr gerade diese Studien über Methämoglobinbildung ihm am Herzen lagen und ihn bis zuletzt beschäftigten, geht daraus hervor, daß er noch 14 Tage vor seinem Tode ein Manuskript zum Abdruck im Archiv einreichte, das den Titel trägt: „*Über die Oxydation des Hämoglobins durch Chlorit.*"

Aber wie der wissenschaftliche *Unterricht*, als Fortsetzung der geistigen Ausbildung zur Gestaltung der Persönlichkeit, so soll auch die wissenschaftliche *Forschung* nicht nur das Wissen um Tatbestände vermehren, sondern zu ihrer Ordnung und Einordnung im Bewußtsein führen unter „Anpassung der Gedanken an die Tatsachen und der Gedanken aneinander", wie Ernst Mach, der häufig und gern zitierte Philosoph, es gekennzeichnet hat. Es ist Heubner immer tiefes Bedürfnis gewesen, die Fülle der Einzelbefunde zu sichten und zu ordnen und in

sinnvolle Beziehung zueinander zu setzen. Das hat Ausdruck gefunden in zahlreichen zusammenfassenden, monographieartigen Darstellungen, die sich nicht nur in unserem Handbuch, sondern auch in physiologischen, klinischen und balneologischen Sammelwerken finden.

Für das *Fach* hat er sich besondere Verdienste erworben, indem er nach Heffters Tode das von diesem begründete *Handbuch der experimentellen Pharmakologie* zusammen mit Joseph Schüller redigierte. Nur die Mitherausgeber unseres Archivs der experimentellen Pathologie und Pharmakologie können so recht beurteilen, wie viel Heubner mit seiner überlegenen Urteilskraft, seiner strengen, aber sachlichen Kritik bei ausgeprägtem Sinn für Prägnanz und Schönheit des sprachlichen Ausdrucks als *Schriftleiter* zu danken ist.

Die Georgia-Augusta ehrte seine Leistungen und Verdienste, indem sie ihn 1922 zum Mitglied der Göttinger Akademie der Wissenschaften ernannte und 1927 zum Rektor wählte. Trotzdem nahm er 1929 einen Ruf auf den Lehrstuhl der Medizinischen Akademie in *Düsseldorf* als Nachfolger von Fritz Hildebrandt an, 1 Jahr später auf den *Heidelberger* Lehrstuhl als Nachfolger von Hermann Wieland. 2 Jahre darauf — 1932 — folgte der 55jährige dem Ruf auf den Berliner Lehrstuhl als Nachfolger Paul Trendelenburgs.

Berlin hielt Heubner fast ein viertel Jahrhundert lang bis zum Jahre 1953. Die wechselvollen Schicksale dieser Stadt während der Kriegs- und Nachkriegszeit hat er an der Seite seiner Frau miterlebt und in Zeiten politischer Bedrohung persönlichen Mut bewiesen. Noch als 71jähriger, dessen akademisches Leben durch seine Emeritierung bereits abgeschlossen war, stellte er sich 1949 der neugegründeten *Freien Universität* in West-Berlin zur Verfügung, übernahm das Amt des Dekans und gestaltete das frühere Kaiser Wilhelm-Institut Carl Neubergs für *Biochemie* zu einem arbeitsfähigen Pharmakologischen Institut um.

Mit einem großen Kreis von Schülern wurden die schon während der Göttinger Zeit bearbeiteten Gebiete vertieft. In besonderem Maße erfuhr ein Gebiet, das schon in der *Straßburger* Habilitationsarbeit „Über die capillarschädigende Wirkung von Goldsalzen" angeklungen war, dem auch Untersuchungen der *Göttinger* Zeit gewidmet sind, und das ihn wie kaum ein anderes zeitlebens gefesselt hat, Ausbau nach vielen Seiten hin: in zahlreichen eigenen Arbeiten und Arbeiten seiner Schüler, die sich um die Klärung des Begriffes „Reiz" und die Erforschung der Pharmakologie der „Reizstoffe", der fließenden Übergänge zwischen „Zellreiz" und „Zellschädigung" bemühen und damit Beziehungen gewinnen zu den Problemen der Entzündung und des Wirkungsmechanismus entzündungserregender Stoffe. Die Bearbeitung dieses Gebietes in *Göttingen* und später in *Berlin*, die manche Anregung auch aus Erfahrungen über die Toxikologie der Kampfstoffe während des ersten Weltkrieges erhalten hatte, und die Ordnung und Einordnung der vielen Einzelergebnisse führte zu einer Gruppierung und Einteilung der Reizstoffe, die sich als Prinzips ihres ausschließlichen oder doch überwiegenden Charakters als reiner *Capillargifte*, *Nervengifte* oder *Zellgifte* bediente. In einer „Systematik der Giftwirkungen" erfolgte die Abgrenzung pharmakologischer und toxischer Wirkungen, deren Grad nur von der einwirkenden *Konzentration* abhängt, von solchen, wo der Effekt bei der gleichen Konzentration um so stärker ist, je länger die *Einwirkungszeit* ist —, den sogenannten c. t.-Giften.

Die Differenzierung zwischen *zeitlosen* Zustandsänderungen durch „Nervengifte" und *zeitgebundener* Beeinflussung von Vorgängen — Stoffwechselvorgängen, Fermentreaktionen usw., die für die „Zellgifte" charakteristisch ist und das betroffene Gebiet von Minute zu Minute verändert, so daß ein *veränderter Zustand* hinterbleibt, wenn das Gift entfernt wird —, diese Differenzierung und Systematisierung der Giftwirkungen führte dann zur Prägung des Begriffes „*Allobiose*". Der

diesem Begriff zugrunde liegende Vorstellungskomplex erwies sich in der Folge als bedeutsam für das Verständnis der „funktionellen Kumulierung" *pharmakologischer* Wirkungen, z. B. der Digitaliswirkung, und *toxischer* Wirkungen bei den chronischen Vergiftungen. Er erwies sich in vielen Fällen auch als fruchtbar für das Verständnis des Wirkungsmechanismus der Desinfizientien und Chemotherapeutica.

Arbeiten über *Zellreiz* und *Zellschädigung* durch Pharmaka an Seeigeleiern, Hefezellen und Fibroblasten, die er zusammen mit seinen Schülern ausführte, Untersuchungen über den „Stoffwechsel des geschädigten Gewebes" und Beziehungen zwischen Stoffwechsel und Wachstum berührten sich mit dem Problem der malignen Tumoren und der Wirkungsweise Krebs-erzeugender Stoffe —, und drängten andererseits zu kritischer Stellungnahme gegenüber einer Richtung in der Medizin, für die der „heilsame Reiz" der kleinen Dosen, die nach dem „Arndt-Schulzschen Gesetz" die Lebensvorgänge anfachen sollen, wesentliche Grundlage des therapeutischen Handelns ist: der Homöopathie.

In seiner Schrift „*Affekt und Logik in der Homöopathie*", die auch von seiner Seite mit diesen beiden Geistesqualitäten — mit ebensoviel leidenschaftlichem Affekt wie kompromißloser Logik — geschrieben ist, tritt ein Zug seines Wesens in Erscheinung, der in mindestens ebenso hohem Maße für ihn als Persönlichkeit charakteristisch ist und diese geprägt hat wie sein Streben, durch eigene Arbeit zur Vermehrung unserer wissenschaftlichen Erkenntnisse beizutragen. Gewiß stellt das wissenschaftliche Lebenswerk dieses Mannes, das in fast 500 Veröffentlichungen allein aus *seiner* Feder niedergelegt ist, eine imposante Leistung dar und ist von entscheidender Auswirkung auf große Gebiete medizinischer Forschung gewesen. Was ihm als *Persönlichkeit* aber die weit über die Grenzen des eigenen Faches hinausreichende Geltung, Hochschätzung und Anerkennung verliehen hat, sind nicht die aus der Abgeschiedenheit des Laboratoriums stammenden Leistungen, sondern etwas anderes. „Wir können ja nicht darüber hinwegsehen, daß ein neutrales Pharmakon auch einmal Therapeutikon oder Toxikon werden kann und damit weit außerhalb unseres Laboratoriums in das Schicksal von Menschen eingreift." Er, der Sohn eines bedeutenden Arztes und Forschers, sah auch selbst immer diese *beiden* Aspekte des pharmakologischen Aufgabenbereichs. Im Vorwort zu der von ihm redigierten „Lebenschronik" seines Vaters heißt es: „Wenn es seit einigen Jahren fast gebräuchlich geworden ist, daran zu zweifeln, ob ein medizinischer, besonders ein naturwissenschaftlich eingestellter Forscher, auch hohe ärztliche Qualitäten besitzen könne, so bedeutet die Erinnerung an meinen Vater für mich die Lösung dieses Zweifels." Das Vorbild des Vaters ist dem Sohn innere Verpflichtung gewesen.

Der Kern seines Wesens und seiner Veranlagung, seiner wissenschaftlichen und ärztlichen Persönlichkeit ist wohl nie überzeugender dargestellt worden als von ihm selbst in seiner Begrüßungsansprache auf der letzten Tagung unserer Gesellschaft vor dem Kriege, 1938, in Berlin, wo er vom Glücksgefühl verstandesmäßiger Erkenntnis sprach und sich zu denen bekannte, die die „ratio" über alles schätzen und denen die Aufhellung unbekannter Zusammenhänge unter strenger Beweisführung ein hohes Glücksgefühl bedeutet. Sein *wissenschaftliches* Lebenswerk gibt Zeugnis von diesem Zuge seines Wesens.

Neben dem Lobpreis der *ratio*, die er so über alles schätzte, bekannte er sich aber auf einer späteren Tagung unserer Gesellschaft zu einem anderen Wort. Es war 5 Jahre nach Kriegsende, 1950, in Nauheim. Heubner hatte den Ehrenvorsitz und zeichnete in seiner Gedenkrede auf Otto Riesser das Charakterbild dieses Mannes. Er sprach von der Liebe zur Wissenschaft und vom reinen Herzen in ihrem Dienst als sittlicher Forderung und sagte dann: „Ich liebe das Wort Gewissenhaftigkeit; in ihm steckt der unabdingbare Zusammenhang von Wissen und Verantwortung." „Scientia et Conscientia." In tiefem Verantwortungsgefühl sah er die

von ihm so erstrebte und auch für den Arzt für so notwendig gehaltene innere Ordnung und Einordnung wissenschaftlicher Erkenntnisse im Bewußtsein auf einem wichtigen Gebiet der Therapie, nämlich der Pharmakotherapie, dadurch bedroht und erschwert, „daß Arzneimittel auch Waren sind, also ein Gegenstand zum Gelderwerb". Er sagt dann: „Ich rechne die Unterrichtung der Ärzte unmittelbar durch eigennützige Interessenten und die Nachgiebigkeit vieler Ärzte gegenüber diesen Nötigungen zu den moralisch minderwertigen Erscheinungen unserer Zeit; denn das Bewußtsein der Verantwortlichkeit hat dabei eine Verschiebung erlitten."

Bis in die letzten Tage seines Lebens ist er nicht müde geworden, die Ärzte zu einer verantwortungsbewußten, *rationellen* Arzneitherapie anzuhalten und sie vor einer Überflutung mit Arzneimitteln zu schützen, deren Wirkung nicht genügend erforscht und bewährt und deshalb problematisch ist. Er wurde der Initiator der deutschen *Arzneimittelkommission*. 1911 stellte der damals 34jährige Göttinger Ordinarius beim Wiesbadener Kongreß für Innere Medizin den Antrag, Abhilfe zu schaffen gegen die Sintflut neuer und oft unwillkommener Präparate. Dem damals eingesetzten Ausschuß gehörten — außer ihm selbst als Geschäftsführer und Redakteur der „Therapeutischen Monatshefte" — Friedrich Penzoldt-Erlangen als Vorsitzender, Georg Klemperer-Berlin und Rudolf Gottlieb-Heidelberg an.

Mit etwas wehmütigem Gefühl begleitete ich 14 Tage vor seinem Tode den fast 80jährigen, der mich in Frankfurt besucht hatte, zum Bahnhof, wo er mit seiner aktengefüllten Mappe den Zug nach Köln bestieg, um an einer hier stattfindenden Sitzung der Arzneimittelkommission teilzunehmen und unverdrossen weiterzukämpfen für die Schaffung eines Arzneimittelgesetzes —, ohne Resignation, nachdem fast ein halbes Jahrhundert seit jener ersten Kommissionssitzung im Rahmen der Gesellschaft für Innere Medizin vergangen war, die einstmals im Jahre 1911 auf die Initiative eines jungen Göttinger Ordinarius der Pharmakologie zusammengetreten war. Um seinen selbstlosen Kampf und Einsatz wahrhaft bis zum letzten Atemzuge hat die deutsche Ärzteschaft gewußt und ihm 1954 ihr Vertrauen und ihre Dankbarkeit durch die Verleihung der *Paracelsus*medaille zum Ausdruck gebracht. Diese Ehrung nimmt eine *besondere* Stellung ein unter den zahlreichen anderen Auszeichnungen, die ihm schon früher zuteil geworden waren in Form eines dreifachen Ehrendoktorates und einer großen Zahl von Ehrenmitgliedschaften in deutschen und ausländischen wissenschaftlichen Gesellschaften.

Den Kampf für eine rationelle medikamentöse Therapie und gegen Auswüchse auf dem Gebiete unseres Arzneimittelwesens hat Heubner aber nicht nur in den Sitzungen der Arzneimittelkommissionen und in zahllosen Vorträgen auf Kongressen und vor ärztlichen Gremien geführt und dadurch, daß er den staatlichen Behörden sein Wissen und seinen Rat zur Verfügung stellte, sondern auch im *Unterricht der Studenten* —, aus der Erkenntnis heraus, daß eine gründliche Unterrichtung schon des *werdenden* Arztes über die wichtigste Waffe, die ihm später für seinen Kampf gegen die Krankheit in die Hand gegeben wird, das *Pharmakon*, die beste Gewähr dafür ist, daß er zu einer eigenen Urteilsbildung über ihre Tauglichkeit oder Untauglichkeit, über ihren Wert oder Unwert gelangt. Denn nicht nur für den wissenschaftlich *Forschenden*, sondern in ganz besonderem Maße auch für den *Arzt* und eine segensreiche *ärztliche* Tätigkeit ist die innere geistige Ordnung und sinngemäße Einordnung der vielen Einzelbefunde und -tatsachen und das damit gegebene innere Gleichgewicht unentbehrlich, „weil" — so heißt es in seiner Berliner Abschiedsvorlesung — „gerade in der Sphäre *pathologischen* Lebens, mit der es der *Arzt* zu tun hat, die Zahl der Erscheinungen besonders groß ist, die sich dem Streben nach ihrer Einordnung, also letzthin nach ihrem Verstehen, hartnäckig widersetzen".

In seiner Gedächtnisrede auf Rudolf Magnus 1927 hebt Heubner unter Hinweis auf die hohe Begabung dieses „geborenen Lehrers" besonders lobend die Fähigkeit hervor, ohne jede Hemmung von allem Störenden und Zweifelhaften abzusehen und in klaren Linien ein einheitliches Bild zu zeichnen, das sich leicht einprägte und schwer verwischte. — Er selbst war anders. Mit dem Maßstab gemessen, den er an Rudolf Magnus anlegt, wäre er selbst kein „geborener Lehrer" gewesen. Seine Vorlesungen waren nicht von allem „Störenden und Zweifelhaften" frei und nicht so abgerundet, daß die *Skepsis* keinen Raum gehabt hätte. Im Gegenteil, mit Nachdruck wies er seine Hörer immer wieder auf noch bestehende Unklarheiten und noch ungelöste Probleme hin, auf den hypothetischen Charakter einer Deutung und die daraus sich ergebende Forderung einer besseren experimentellen Fundierung. So war seine Vorlesung wegen der hohen Anforderungen, die sie stellte, beim Durchschnitt der Studenten vielleicht nicht besonders geschätzt, um so höher allerdings bei denen, die willens und in der Lage waren, ihr zu folgen.

In seiner Abschiedsvorlesung 1953 in *Berlin*, in der an manchen Stellen die Resignation des alten Mannes aufklingt, der am Ende eines langen Lebens erkennt, daß von den Zielen, die einst der Jüngling sich steckte, nur ein Teil erreicht wurde — in dieser Vorlesung bekennt er, daß die Vorlesungstätigkeit im Zentrum seines Lebens gestanden und unablässig als eigentliche Aufgabe sein Tun und Lassen bestimmt habe. Er sagt von sich: „Ich habe das Amt des Lehrers stets ernst genommen und all diese Jahrzehnte, soweit es meine Kraft zuließ, mich bemüht, im Gesamtgebiet meines Faches gut orientiert zu bleiben, also auch viel zu lesen und mir geistig anzueignen, was mich wissenschaftlich nicht interessierte. Mir ist zumute, als habe gerade davon die fortschreitende Zeit zunehmend mehr gebracht." Etwas später heißt es: „Was das Interesse der verschiedenen Auditorien anlangt, die im Laufe mehrerer Jahrzehnte in 6 verschiedenen Hörsälen vor mir gesessen haben, so bin ich mir recht bald darüber klar geworden, daß es gering war." Mahnend fährt er fort: „Diese Erfahrungen sind etwas besorgniserregend, wenn man gesehen hat, welcher Zeitaufwand und welcher Eifer in den besseren Universitäten der USA dem Fache der Pharmakologie gewidmet werden."

Da er selbst nicht mehr im Lichte des Tages wandelt, sollten wir seine Mahnung besonders ernst nehmen und uns zu eigen machen. Was uns als Land, in dem die Pharmakologie als experimentelle Wissenschaft begründet wurde, von anderen, und nicht nur von den englisch sprechenden Ländern unterscheidet, ist, daß anderswo in weit höherem Maße als bei uns neben der Forschung auch der *Unterricht* in der Pharmakologie gepflegt wird und einen weit größeren Raum in den medizinischen Studienplänen einnimmt. Durch in den Ausbildungsplan eingebaute praktische Übungen gewinnt der junge Mediziner in Amerika und England, auch z. B. in Schweden, eine viel größere Vertrautheit als der deutsche Student mit dem, was später zu seinem wichtigsten und täglich benutzten Werkzeug wird, dem Pharmakon. So glaube ich, daß wir als Fachvertreter und Dozenten der Pharmakologie in einer am gestrigen Nachmittag stattgefundenen Sitzung im Sinne Wolfgang Heubners gehandelt haben, als wir beschlossen, auf unserer nächsten Tagung einer Diskussion der Gestaltung und Reform des pharmakologischen Unterrichts Raum zu geben.

Die *geschichtliche Entwicklung* hat es mit sich gebracht, daß die großen Anatomen des vorigen Jahrhunderts und die machtvolle Persönlichkeit eines Rudolf Virchow ihren Fächern auch im Ausbildungsgang der Mediziner ein hohes Gewicht sichern konnten, das heute noch besteht und nachwirkt. Jedem Einsichtigen ist aber erkennbar, daß die Entwicklung der letzten Jahrzehnte, die sich vor unseren Augen abgespielt hat, zu einer Verlagerung des Schwergewichts von der reinen Morphologie zum funktionellen Denken der Physiologie, Physiologischen Chemie und Pharmakologie geführt hat, und deshalb die Zeit gekommen ist zu fragen, ob

die augenblickliche Gewichtsverteilung und Bewertung der Fächer im Studienplan noch sinnvoll ist und nicht einer Revision bedarf.

Es ist eine versöhnende Einrichtung der Natur, daß beim Menschen mit fortschreitendem Alter an die Stelle der *ab*nehmenden jugendlichen Initiative und schöpferischen Produktionskraft die *zu*nehmende Urteilsfähigkeit und Weisheit tritt, die sich auf die Erfahrung eines langen Lebens stützt. Liegt es im Wesen des jungen Stürmers und Drängers, auch andere zu entflammen und in Begeisterung hineinzuziehen, so ist es dem weise gewordenen Greis, in dem die Dissonanzen der Jugend zu harmonischem Ausgleich kamen, vergönnt, denen, die noch unterwegs sind, zu *leuchten* und Vorbild zu sein. So wird Wolfgang Heubner vor uns allen, die sich noch auf dem Wege fühlen, als der Vollender eines in sich gerundeten Lebens stehen —, nicht nur als Forscher und Lehrer von großer erzieherischer Ausstrahlung auf ganze Generationen junger Pharmakologen und deutscher Ärzte, sondern auch als *Mensch*, der um die Höhen und Tiefen des Lebens wußte, der auch den Genüssen, die es bietet, nicht abhold war, und in der Ablehnung alles undurchsichtig, jenseitig Irrationalen sich *selbst* bis zuletzt treu blieb. Er muß ein *glücklicher* Mensch gewesen sein, wenn das Goethewort gilt: „Höchstes Glück der Erdenkinder sei nur die Persönlichkeit."

Als wir ihm an einem strahlenden Vorfrühlingsmorgen dieses Jahres auf dem Bergfriedhof in *Heidelberg*, der Stadt, in der er seinen Lebensabend verbrachte, das letzte Geleit gaben, haben wir von ihm Abschied genommen in dem Bewußtsein, daß er einer der Großen unseres Faches war, einer, der das Erbe, das er von den Gründern übernahm, treu verwaltet und gemehrt hat; wir taten es in dem Gefühl der Verpflichtung, uns dieses Erbes würdig zu erweisen.

Ich schließe mit den Worten, die er selbst vor 20 Jahren in seiner Gedächtnisrede auf einen anderen Großen unseres Faches — Rudolf Magnus — sprach: „*So werden wir in diesen Tagen unter der Wirkung seines Geistes stehen, obwohl er selbst nicht mehr unter uns weilt.*"

Ich bitte Sie, sich zu Ehren unserer Toten zu erheben.

Die 23. Tagung der Deutschen Pharmakologischen Gesellschaft ist eröffnet.

B. Referate

W. Neumann (Würzburg): Gegenwartsprobleme der Toxikologie

Die Deutsche Pharmakologische Gesellschaft hat über Spezialfragen aus dem Bereich der Toxikologie schon wiederholt auf ihren Tagungen referieren lassen. So haben F. Flury[18] und H. Zangger[48] vor rund 30 Jahren in Hamburg den damaligen Stand des Gebietes der gewerblichen Vergiftungen dargelegt, und aus jüngster Vergangenheit ist an die Göttinger Tagung mit einem Bericht über Lösungsmittel und Lösungsvermittler (Loeser[31]) und Referate über die Methanolvergiftung (Keeser[27], Orthner[38]) zu erinnern.

Für uns ist es wohl selbstverständlich, daß Toxikologie und Pharmakologie nicht etwa zwei verschiedene Gebiete sind, sondern fließend und wechselseitig ineinander übergehen. Die Pharmakologie ist längst über das Stadium hinausgewachsen, in dem sie sich zunächst auf die Erforschung der Wirkungsweise der Arzneimittel, der Pharmaka im engeren Sinne, konzentriert hatte. Sie studiert schon lange die biologischen Wirkungen *aller* Stoffe ohne Rücksicht darauf, ob ein Teil davon als Arzneimittel geeignet erscheint und ob andere Substanzen, die in dem erweiterten und verallgemeinerten Sinne des Wortes ebenfalls Pharmaka sind, vielleicht aus irgendeinem Grunde vor allem wegen toxischer Wirkungen interessieren. Die Untersuchung von Substanzen dieser letzterwähnten Art kann als Toxikologie abgegrenzt werden, es ist aber keine experimentelle Toxikologie möglich, die nicht zugleich im Wesen Pharmakologie bliebe. Man ist über ein „Gift" nur sehr lückenhaft unterrichtet, wenn man zwar weiß, daß es in irgendeiner Dosierung bei Tier oder Mensch toxische Wirkungen auslöst, wenn aber nichts über die Art seiner pharmakologischen Wirkungen im allgemeinen Sinne dieses Wortes bekannt ist. Ebenso wäre aber auch ein „Arzneimittel" pharmakologisch nur sehr oberflächlich charakterisiert, solange nicht bekannt wäre, bei welchen Dosierungen toxische Wirkungen auftreten und welcher Art diese sein könnten.

Das für den Laien so eindrucksvolle und beunruhigende Wort „Gift" bezeichnet einen sehr relativen Begriff. Zahlreiche Substanzen, die im täglichen Leben als harmlos gelten, können sich unter bestimmten ungünstigen Umständen als Gift erweisen. Es war schon Paracelsus bewußt, daß alle Dinge Gift sind, daß kein Ding ohne Gift ist und daß allein die Dosis, die einwirkende Menge, ein Ding zum Gift macht. Wir wissen aber heute, daß diese Formulierung in ihrer einseitigen Konzentrierung auf die quantitativen Verhältnisse zu stark vereinfacht. Zwar entscheidet die

Höhe der Dosis sehr oft darüber, ob eine Substanz in einer gegebenen Situation schädliche biologische Wirkungen entfaltet, also toxisch wirkt, den Ausschlag können aber auch ganz andere Faktoren geben. In dem besonderen Falle eines einzelnen Individuums können sich dabei Jugend oder höheres Alter, bestehende oder überstandene Erkrankungen, Besonderheiten der Ernährung und nicht zuletzt auch individuelle Anlagen und Überempfindlichkeiten sehr wesentlich auswirken.

1. Gifte im modernen Leben

Wir begegnen heute in der Öffentlichkeit vielfach einer übertriebenen Furcht vor Giften. Das hängt damit zusammen, daß im modernen Leben altbekannte und neuhergestellte Substanzen eine immer vielseitigere Verwendung für die verschiedenartigsten Zwecke finden. Selbstverständlich muß die Frage, ob und wieweit dadurch Gesundheitsschädigungen möglich werden, von Fall zu Fall gewissenhaft geprüft werden. Sie ist aber im Prinzip keineswegs neu. Man erinnere sich nur, daß schon der Gebrauch des Feuers seit Urzeiten mit der Gefahr der Kohlenoxydvergiftung verbunden ist und immer damit verbunden bleiben wird. Andere „notorische Gifte" wie Blei und Quecksilber sind nur dadurch zu praktischer Bedeutung gelangt, daß der Mensch sie seinen Zwecken dienstbar gemacht hat. Wenn also auch in unseren Tagen für irgendwelche Zwecke immer noch neue Substanzen herangezogen werden, die unter Umständen toxische Effekte zeigen könnten, so ist dieser Vorgang an sich nichts Ungewöhnliches.

Erfährt der Laie davon, womöglich in einer Form, die einem heute weit verbreiteten Sensationsbedürfnis entgegenkommt, so ist seine Reaktion verständlicherweise nicht nur ein Erschrecken vor dem Schlagwort „Gift", sondern zugleich ein erregter Protest gegen die Zumutung, in seiner Umgebung oder gar in seiner Nahrung „Gift" zu dulden. Es ist ihm ja nicht bewußt, daß Gifte das tägliche Leben seit den ältesten Zeiten begleiten. Vor allem weiß er nicht, daß erst unter besonderen Umständen, in erster Linie durch bestimmte quantitative Verhältnisse, eine Gesundheitsgefährdung durch dieses oder jenes Produkt möglich wird.

Die Verwendung neuer Substanzen für technische Zwecke, die zugleich Menschen in Berührung mit diesen Stoffen bringen können, verlangt und findet überall die volle Aufmerksamkeit sachverständiger Gremien, deren Aufgabe es ist, zu prüfen, ob nicht vielleicht vermeintliche Vorteile durch eine bedenkliche Gefährdung mehr als aufgewogen werden, und die ebenso die bereits bestehende Situation immer wieder darauf überprüfen, ob neu gewonnene Erkenntnisse nicht dazu nötigen, eine früher vertretene Auffassung über die Unbedenklichkeit einer Substanz zu revidieren.

Diese entscheidend wichtige Frage erhebt sich besonders häufig im Bereich der Gewerbetoxikologie, und von hier aus hat die Entwicklung der Fragestellung und der Methodik im Gesamtbereich der Toxikologie im Laufe des letzten halben Jahrhunderts die zahlreichsten und die wichtigsten Impulse empfangen.

K. B. Lehmann[30] hat sich wohl als erster bemüht, eine bei bestimmten Arbeitsvorgängen durch Gifte entstehende oder doch mögliche Gesundheitsgefährdung auf Grund von Experimenten zahlenmäßig zu umschreiben, um dann die eventuell aufgedeckten Gefahren durch geeignete Maßnahmen zu beseitigen oder wenigstens auf einen duldbaren Grad herabzusetzen. Er hat Stoffe, die bei ihrer Herstellung oder bei ihrer technischen Verwendung in die Luft von Arbeitsräumen übergehen können, im Tierversuch geprüft und daneben in entsprechenden Betrieben die dort arbeitenden Personen untersucht. Zunächst wurden die akuten Wirkungen darauf studiert, welche Konzentrationen der Gase oder Dämpfe schon bei ganz kurzdauernder Einatmung höchst gefährlich sind, welche etwas länger ertragen werden und bei welchen praktisch keine Gefährdung mehr besteht, wenn die Einwirkung sich über eine oder mehrere Stunden erstreckt. Von diesen Anfängen aus hat sich die Fragestellung immer mehr spezialisiert. Gleichzeitig hat sich der Schwerpunkt des Interesses auf chronische Schädigungen verlagert, die langsam und zunächst unbemerkt entstehen, wenn kleine Mengen eines Gewerbegiftes lange Zeit hindurch immer wieder einwirken. Beim beruflichen Umgang mit Benzol z. B. können, wie zahlreiche Beispiele zeigen, unter Umständen Jahre vergehen, bis ein deutliches Krankheitsbild auffällt.

Heutzutage studiert man also in größtem Maßstab nicht allein die akuten Wirkungen der Arbeitsstoffe, sondern ganz besonders eingehend die Frage, wie sich Schädigungen verhüten lassen, die durch eine über lange Zeit hin immer wieder erfolgende Einwirkung des betreffenden Stoffes entstehen könnten. In der Technik läßt sich ja die Berührung mit gesundheitsgefährdenden Substanzen vielfach nicht vermeiden, vor allem wenn sie in die Luft von Arbeitsräumen übertreten und dadurch eingeatmet werden. Theoretisch könnte man zwar Vergiftungen durch entsprechende Belüftung der Räume mit Sicherheit verhindern, in der Praxis begegnet ein solches Vorhaben aber manchen Hindernissen.

Am einfachsten ist die Verhütung chronischer Vergiftungen, so paradox es klingen mag, in Großbetrieben, die notorische Gifte jahraus jahrein in Tonnenmengen produzieren oder weiterverarbeiten. Allerdings werden die Gifte hier von vornherein in geschlossenen Apparaturen gleichsam hinter Schloß und Riegel gehalten, so daß sie nur Schaden anrichten können, wenn es ihnen bei Betriebsstörungen gelingt, aus ihrem Gefängnis auszubrechen. Schwieriger wird die Beherrschung der Giftgefahr, wenn ein technischer Prozeß keine geschlossene Apparatur gestattet.

Dann helfen nur andere technische Maßnahmen, denen aber durch betriebsbedingte Umstände Grenzen gezogen sein können und die manchmal beträchtliche Kosten verursachen. Im Endergebnis ist häufig, zumal in Kleinbetrieben, die Einwirkung bestimmter Stoffe selbst bei bestem Willen aller Beteiligten nicht völlig zu vermeiden, sondern nur auf ein gewisses Maß herabzusetzen.

Die Gewerbetoxikologie muß jedoch mit größtem Nachdruck fordern, den Gehalt an gesundheitsgefährdenden Stoffen in der Luft von Arbeitsräumen so niedrig zu halten, daß er auch bei kritischer Betrachtung als unbedenklich angesehen werden darf. So einfach und selbstverständlich dies klingt, so schwierig kann schon die Aufstellung eines entsprechenden noch duldbaren Grenzwertes werden. Sie ist immer nur nach bestem Wissen und Gewissen auf Grund des jeweiligen Standes der Wissenschaft möglich und bedarf daher ständiger Überprüfung und nötigenfalls Änderung. Praktische Beobachtungen aus geeigneten Betrieben sind dabei ebenso zu berücksichtigen wie die Ergebnisse von Versuchen, außerdem spielt die mögliche Dauer einer eventuellen Exposition eine entscheidende Rolle. Ein bestimmter Stoff tritt vielleicht in einem Betriebe regelmäßig den ganzen Tag über mit einer etwas schwankenden, im ganzen aber relativ geringen Konzentration in der Luft auf, in einem anderen dagegen im Laufe eines Arbeitstages nur für eine beschränkte, relativ kurze Zeit, dafür aber in einer wesentlich höheren Konzentration.

Bisher ist überwiegend der erste dieser beiden Fälle studiert worden. Man hat sich bemüht, für die in Frage kommenden Stoffe Grenzwerte aufzustellen, Grenzkonzentrationen, die auch dann noch als unbedenklich angesehen werden können, wenn sie über längere Zeiträume hin jeweils den Achtstundentag hindurch einwirken. Praktisch stellt jeder dieser Werte das Maximum für den Mittelwert dar, um den die Effektivkonzentration des betreffenden Stoffes im Laufe des einzelnen Arbeitstages schwankt. Es kann aber nur von Stoff zu Stoff und von Fall zu Fall entschieden werden, in welchem Ausmaß und für welchen Zeitraum die Effektivkonzentration von dem Mittelwert abweichen dürfte. Da bei Außenstehenden und insbesondere bei Nichtmedizinern erfahrungsgemäß nicht selten Mißverständnisse über die hier zu beachtenden Zusammenhänge und über die Bedeutung der Grenzwerte bestehen, sei ausdrücklich gesagt, daß es auf diesem Gebiet schon wegen der Unterschiede hinsichtlich Resorption, Elimination und Wirkungsmechanismus der einzelnen Stoffe keine allgemein verwendbaren Regeln gibt. Vor allem ist es unmöglich und daher zugleich unzulässig, etwa von einem für den 8-Std-Tag genannten Grenzwert auf die für eine bestimmte kürzere Zeit zulässige Konzentration zu schließen. Ein schematisierendes Umrechnen, wie es hier und da versucht worden ist, könnte zu sehr verhängnisvollen Irrtümern führen.

In den Vereinigten Staaten hat man schon vor 3 Jahrzehnten die Ermittlung und Festlegung von Grenzwerten der eben erwähnten Art angestrebt (zitiert nach Elkins[16]), und C. K. Drinker[12] ist 1939 mit „permissible limits" für 14 Halogenkohlenwasserstoffe vor die internationale Öffentlichkeit getreten. Seitdem ist die Entwicklung schnell vorangeschritten. Im Jahre 1940 faßte eine amerikanische Arbeitsgruppe[6] 41 „safe concentrations" zusammen, ein Jahr später gründete die regelmäßig zusammentretende Konferenz der amerikanischen Regierungs-Gewerbehygieniker ein Komitee für die Aufstellung solcher Grenzwerte, neben dem sich ein zweites Gremium der Aufgabe widmete, Standard-Methoden zur Bestimmung gesundheitsgefährlicher Stoffe in der Luft von Arbeitsräumen zu entwickeln. Im nächsten Jahr konnten bereits Werte für 86 Gase, Dämpfe, Rauch- und Staubarten zusammengefaßt werden, 1946 wurde beschlossen, die „maximum allowable concentrations" jährlich zu überprüfen (zitiert nach Coleman[8]). Im Jahre 1950 wurden „threshold limit values" für 143 derartige Stoffe und außerdem 13 Arten von Mineralstaub mitgeteilt[17]. Die 1956 erschienene Liste nennt insgesamt 164 „established values" und dazu noch 33 „tentative values[9]". Gleichzeitig ist in den Vereinigten Staaten im Hinblick auf die praktische Gesundheitsvorsorge Vorbildliches geleistet worden (vgl. z. B. bei Rossmann[39]).

Selbst eine mit größter Sorgfalt durchgeführte Aufstellung von Grenzwerten kann sich aber im Sinne einer Verhütung gewerblicher Vergiftungen nur auswirken, wenn Apparate und Methoden zur Verfügung stehen, mit denen im Einzelfall geprüft werden kann, ob man sich innerhalb des als unbedenklich anzusehenden Konzentrationsbereiches befindet. Sie sollten möglichst unkompliziert und auch von Personen zu verwenden sein, die keine spezielle analytische Erfahrung besitzen. Leider sind bei uns solche Apparate und Methoden bisher nur für wenige Gewerbegifte verfügbar.

In der Bundesrepublik hat ein Gremium der Deutschen Gesellschaft für Arbeitsschutz sich unter Mitwirkung von Toxikologen und mit Unterstützung des Bundesministeriums für Arbeit mit den Problemen der Grenzwerte (MAK-Werte; MAK = Maximale Arbeitsplatz-Konzentration, Oettel[37]) beschäftigt. Die Deutsche Forschungsgemeinschaft hat 1955 eine Kommission zur Prüfung gesundheitsschädlicher Arbeitsstoffe aufgestellt, in der die hier angedeuteten Fragen der Gewerbetoxikologie von Toxikologen gemeinsam mit Gewerbeärzten und Analytikern bearbeitet werden. Es besteht aber in der Bundesrepublik auf diesem Gebiet zur Zeit noch ein gewisser Rückstand gegenüber dem Ausland und vor allem gegenüber den Vereinigten Staaten, wo gewerbetoxikologische Untersuchungen auf viel breiterer Basis und mit größeren Mitteln erfolgen. Wir sind zur Zeit noch genötigt, uns weitgehend auf diese Arbeiten

des Auslandes zu stützen, vor allem hinsichtlich der eben erwähnten Grenzwerte. Das Bundesministerium für Arbeit hat z. B. die interessierten Kreise über die sogenannte „Maximale Arbeitsplatz-Konzentration (MAK)" von Gasen und Schwebstoffen im wesentlichen auf Grund der schon erwähnten „Threshold Limit Values" unterrichtet.

Die Frage, ob es bedenklich oder unbedenklich wäre, von gewissen Stoffen kleine Mengen immer wieder und manchmal lange Zeit hindurch aufzunehmen, besteht aber nicht nur in den Betrieben der Technik. Sie gilt zugleich für große Teile der Allgemeinbevölkerung, wenn ein entsprechendes Erzeugnis breite Verwendung für manchmal sehr verschiedenartige Zwecke findet.

Noch weiter kann sich der Kreis der Betroffenen ausdehnen, unter Umständen sogar auf die Gesamtbevölkerung, wenn in Landwirtschaft und Gartenbau mit Schädlingsbekämpfungsmitteln gearbeitet werden muß und Spuren davon auf und in entsprechende Lebensmittel übergehen können. Analog ist die Situation, die den Toxikologen vor ernste Entscheidungen stellen kann, im Bereich der Lebensmittelzusätze und besonders der Lebensmittelfärbung, ebenso auf dem Gebiet der Kunststoffverwendung. Hierauf gehen erfahrene Herren in den folgenden Referaten ein.

Es muß aber erwähnt werden, daß es noch weitere Beispiele dieser Art gibt, von denen zwei wenigstens kurz berührt werden müssen. Das erste betrifft die Gefahren, die in der ständig zunehmenden Luftverunreinigung liegen, von der besonders bestimmte Industriegebiete betroffen sind. Die hier entstehenden vielseitigen Probleme werden im Ausland schon seit Jahren und mit großen Mitteln bearbeitet und sollten auch bei uns lebhafteste Aufmerksamkeit finden. Die Gefahren, die speziell mit dem „smog" verbunden sind — das Wort ist aus smoke = Rauch und fog = Nebel entstanden —, haben sich durch einige plötzlich aufgetretene Massenerkrankungen unmißverständlich bemerkbar gemacht, z. B. im Dezember 1930 im Maastal, im Jahre 1948 im Donoratal in den Vereinigten Staaten und schließlich in den letzten Jahren wiederholt in London[10,11,32,45]. Der Zusammenhang der Massenerkrankungen mit besonderen Wetterbedingungen ist sicher. In allen Fällen ist infolge einer seltenen, aber sehr ungünstigen Wetterlage die normalerweise ständig erfolgende Luftdurchmischung ausgeblieben, so daß sich in Bodennähe Luftverunreinigungen ungewöhnlich anhäuften, die übrigens teilweise, in London sogar zum überwiegenden Teil, aus nichtindustriellen Quellen stammten. Bezüglich der Stoffe, die als Ursache anzusehen wären, gehen selbst die auf gute Unterlagen gestützten Meinungen noch auseinander. In London dürfte in erster Linie eine Kombination von Kohle- und Ölverbrennungsprodukten mit der gleichzeitig entstandenen feinen Flugasche vorgelegen haben, wobei unter den Verbrennungsprodukten

vor allem an Schwefeloxyde und entsprechende Säurenebel gedacht worden ist[45]. Nach anderer Auffassung kann die Mitbeteiligung von Schwefeldioxyd und Schwefelsäure zwar nicht bestritten werden, soll aber nicht die Ursache solcher Zwischenfälle sein[22], schließlich werden saure Sulfate als Ursache der entzündlichen Reizungen angesehen[24]. Ein analoger Vorfall, der 1950 in Mexico 22 Todesopfer forderte, beruhte auf einem Schwefelwasserstoffausbruch bei einer Betriebsstörung an einer Destillationsanlage[33]. Ereignisse dieser Art sind schon im vorigen Jahrhundert beobachtet worden[45], im letzten Jahrzehnt aber auffällig gehäuft aufgetreten.

Das zweite Beispiel sind manche Begleitumstände der Gewinnung und Verwendung von Atomenergie. Die radioaktiven Abfallstoffe, die durch Atom- oder Wasserstoffbomben oder auch beim Betrieb von Atom- oder Kernreaktoren entstehen, interessieren nicht nur den Physiker und Strahlenforscher. Sie stellen auch der Toxikologie schwerwiegende Probleme, die zum Teil ganz neuer Art sind. Während nämlich viele bekannte Gifte durch chemische Umsetzungen zerstört oder auch in unschädlicher und leicht zu beseitigender Form gebunden werden können, lassen sich radioaktive Substanzen nicht zerstören. Ihre Strahlung kann an sich weder verhindert noch beschleunigt werden. Man geht bisher so vor, daß man solches Material sammelt und hinter Blei- oder Betonpanzern an einem Ort deponiert, den man für sicher hält. Was sich daraus ergeben wird, erfahren vielleicht erst kommende Generationen. Andererseits kann man versuchen, Stoffe dieser Art in stehenden oder fließenden Gewässern so zu verteilen, daß das Wasser keinen heute als bedenklich anzusehenden Betrag an Strahlung annimmt. Dabei hat sich aber gezeigt, daß sich einzelne dieser Stoffe auf Grund ihrer chemischen Eigentümlichkeiten an gewissen Stellen anhäufen, z. B. in Algen übergehen und von da aus in Tiere gelangen. Ist es einmal so weit, so erscheint plötzlich die Rückkehr zum Menschen als gar nicht sehr unwahrscheinlich.

2. Nebenwirkungen der Arzneimittel

Ein großes und gerade für den Arzt sehr wichtiges Gebiet der Toxikologie kann hier leider nur in Form kurzer Hinweise erwähnt werden, obwohl es für sich allein eine ganze Tagung beanspruchen könnte: es umfaßt die sogenannten Nebenwirkungen der Arzneimittel.

Alle Arzneimittel, seien sie nun der Natur entnommen oder durch Synthese gewonnen, haben durchaus nicht nur günstige, für die Pharmakotherapie verwertbare Effekte, zumal wenn sie absichtlich oder unabsichtlich in relativ hoher Dosierung einwirken. Für die Pharmakologie als rein objektiv feststellende Wissenschaft umfaßt das Gesamtbild der Wirkung eines Pharmakons auch die „unerwünschten" Erscheinungen. Erst wenn eine anthropozentrisch orientierte Betrachtung nur

nach günstigen, therapeutisch verwertbaren Effekten verlangt, entsteht die begriffliche Zusammenfassung und Abgrenzung toxischer Effekte als „Nebenwirkungen".

Mit diesen Erscheinungen haben sich in den letzten Jahren besonders französische Autoren eingehend beschäftigt. Sie haben den Begriff der „Maladies médicamenteuses[1,43]" geschaffen und „Le risque thérapeutique[13]" behandelt. Zu den maladies médicamenteuses zählen nicht nur spezifische Vergiftungen durch absolute Überdosierung, sondern bei überempfindlichen Patienten auch solche durch Dosen von üblicher Größe, also durch eine relative Überdosierung. Daneben treten weitgehend unspezifische Erscheinungen bei Überempfindlichen oder nach Sensibilisierung auf. Man hat dabei die Pharmaka in habituelle und accidentelle Reaktogene unterteilt[1]. Eine neuere, von Meyler[34] gegebene Zusammenstellung all solcher Erscheinungen umfaßt rund 800 heute gebräuchliche Pharmaka.

Mit Nebenwirkungen ist bei bestimmten Mitteln auch bei deren Verwendung zu diagnostischen Zwecken zu rechnen. Ein besonderes und gesteigertes Risiko kann in dem gleichzeitigen diagnostischen und therapeutischen Gebrauch mehrerer Mittel liegen, und ein übereifriges Bemühen um möglichst vollständige Berücksichtigung aller diagnostischen Gesichtspunkte und um die Behandlung aller klinischen Symptome hat unter Umständen bedenkliche Folgen. In den Vereinigten Staaten sind einmal, was aber wohl als extrem gelten darf, unter tausend Patienten eines großen Krankenhauses rund 50 ernstere toxische Reaktionen als „iatrogene Erkrankung" aufgetreten[2].

Manche Einzelvorträge dieser Tagung betreffen die Behandlung bestimmter Vergiftungen. In diesem Zusammenhang ist zu erwähnen, daß in den letzten Jahren wichtige neue Wege für die Behandlung einiger Schwermetallvergiftungen erschlossen worden sind. Mehrwertige Metallionen, etwa von Blei und Quecksilber, können durch Komplexbildner vom Typ der Äthylendiamintetraessigsäure gebunden und beschleunigt in den Harn übergeführt werden. Die damit verbundene Entgiftung scheint allerdings bisher vorzugsweise auf akute Vergiftungsfälle beschränkt zu sein. Als „Nebenwirkung" können zusammen mit den schädlichen auch lebenswichtige Ionen wie Calcium, Eisen, Mangan und Kupfer gebunden und entfernt werden. Zur Vermeidung des Calciumentzugs wird im Fall der Äthylendiamintetraessigsäure deren Calcium-Dinatrium-Salz verwendet[33a]. Offen ist unter anderem noch die Frage, ob es mit Hilfe solcher Komplexbildner gelingen wird, Strontium selektiv aus dem Organismus zu entfernen. Das hätte eventuell Bedeutung für die Verhinderung einer Speicherung von radioaktivem Sr^{90}, das zur Zeit von Atombombenversuchen her in der Stratosphäre um die Erde kreist und und langsam ausfällt.

3. Kritik der Beurteilung toxischer Wirkungen

Die bisher gegebene gedrängte Übersicht über die aus dem Stofflichen erwachsenden Gegenwartsprobleme der Toxikologie läßt wohl verstehen, daß die Fülle der Aufgaben die Toxikologen zugleich zu einer selbstkritischen Überprüfung ihrer Arbeitsweise und vor allem des Umfangs ihrer Urteilsmöglichkeiten veranlaßt hat. Wegen der Einzelheiten muß an dieser Stelle auf vorzügliche Übersichten verwiesen werden, in denen Gaddum[21] die Anordnung und Auswertung akuter Toxicitätsbestimmungen und Barnes u. Denz[4] die analoge Prüfung der Wirkungen chronischer Gaben dargestellt und zugleich die Grenzen umrissen haben, die insbesondere dem Tierversuch und seiner Auswertung im Hinblick auf den Menschen gezogen sind.

Es sei nur das Grundsätzliche herausgestellt: Auch dem gewissenhaftesten und eifrigsten Experimentator sind Grenzen gesetzt bei seinem Bemühen, alle für die toxikologische Beurteilung wesentlichen Einzelheiten des Wirkungsbildes einer Substanz aufzudecken. Das gilt, wie nicht vergessen werden darf, für Versuche und Beobachtungen an Menschen genau so wie für Tierversuche. Irrtümer sind hier wie überall möglich, wo an neue Situationen herangetreten wird. Es gibt kein Kriterium dafür, ob die von den Experimenten gegebene Auskunft vollständig und die Deutung der Befunde richtig ist. Neue Erkenntnisse geben manchmal Veranlassung, eine zunächst gewonnene Auffassung über die Unbedenklichkeit der Verwendung einer Substanz zu revidieren. Ein bekanntes Beispiel hierfür liefert das Buttergelb, dessen Verwendung eingestellt worden ist, sobald bekannt wurde, daß es bei Ratten Leberkrebs erzeugen kann. Im Bereich der Gewerbetoxikologie werden die schon erwähnten Listen zulässiger Grenzkonzentrationen ständig durch sachverständige Gremien überprüft und abgeändert, sobald neue Befunde dies als erforderlich erscheinen lassen.

Tierversuche gestatten immer nur mit einer gewissen Wahrscheinlichkeit Schlüsse auf das Verhalten des Menschen, und selbst von Versuchen an einer bestimmten Zahl von Personen aus ist nie mit Sicherheit, sondern stets nur mit Vorbehalt auf die Wirkung bei anderen Menschen zu schließen. Jede Aussage, die wir aus einem bestimmten Beobachtungsmaterial abzuleiten suchen, bleibt davon abhängig, daß die Beobachtungen vielleicht nicht gleichwertig sind und daß vor allem ihre Zahl beschränkt ist. Damit kann jedes Ergebnis von vornherein nur einen von dieser Zahl abhängigen Wahrscheinlichkeitsgrad erlangen, und andererseits bleibt mit einer bestimmten Wahrscheinlichkeit auch ein abweichendes Verhalten möglich. Sollte also etwa eine Versuchsreihe jene Grenzdosis eines Stoffes ermitteln, die praktisch keine Veränderungen mehr erzeugt, so müßte gleichzeitig festgelegt werden, welcher Prozentsatz an abweichenden Reaktionen noch als unbedenklich gelten dürfte; denn

darauf müßte die Anordnung und insbesondere die Zahl der Versuche abgestellt werden. So wären z. B. für eine Überprüfung, ob eine relativ harmlose Reaktion nicht häufiger als in rund 1% der Fälle auftritt, schon 295 Einzelversuche erforderlich, wenn man sich mit einer Wahrscheinlichkeit von 19 : 1 begnügt, daß keine zufällige Abweichung hereingespielt hat; um die Wahrscheinlichkeit, daß keine Täuschung durch einen Zufall vorliegt, auf 999 : 1 zu erhöhen, müßte man schon 670 Einzelversuche ausführen[3].

Diese wenigen Zahlen mögen demonstrieren, daß niemand mit Sicherheit behaupten oder garantieren kann, eine Substanz sei unter diesen oder jenen Umständen für den Menschen sicher unschädlich. Die Forderung nach einer derartigen Garantie wird freilich von Unkundigen immer wieder gestellt. Sie ist unrealistisch und von vornherein unerfüllbar. Was dagegen eine sorgfältige pharmakologisch-toxikologische Untersuchung in der Hand eines erfahrenen Untersuchers ermöglichen kann und ermöglichen muß, ist die Entscheidung, ob die Verwendung einer Substanz bei dem gegenwärtigen Stand der Wissenschaft und unter den und den Umständen als unbedenklich erscheint. Leider werden die Bezeichnungen unschädlich und unbedenklich immer wieder in unkritischer Weise verwendet. Vielleicht trägt zur Klärung der Begriffe der Hinweis etwas bei, daß „unbedenklich" sich mit dem englischen „safe" deckt, wobei „safety" vom Food Protection Committee der amerikanischen National Academy of Sciences definiert wird als „the practical certainty that injury will not result from use of a substance in a proposed quantity and manner[19]".

Wegen der in Einzelfällen möglichen unerwarteten Reaktion wird gleichzeitig gesagt: „It is impossible, however, to establish absolute assurance that the additive . . . . will be completely safe for all humans under all conditions[19]".

Bei der toxikologischen Untersuchung einer Substanz liefern in jedem Fall akute oder subakute Tierversuche zunächst ein vorläufiges allgemeines Urteil über den Grad vorhandener toxischer Wirkungen. Solange dabei lediglich Zahlen, etwa DL_{50}-Werte für diese oder jene Tierart, erhalten werden, besagen diese wenig über das Risiko, das mit der geplanten Verwendung der Substanz verbunden wäre. Eine wissenschaftlich fundierte Beurteilung setzt die Kenntnis der wichtigsten Züge des Wirkungsmechanismus voraus, in dem Sinne, wie weiter oben von den engen und wechselseitigen Beziehungen zwischen Pharmakologie und Toxikologie gesprochen wurde. Es sind Experimente erforderlich, die Hinweise auf die wichtigsten Charakteristica der Wirkung des betreffenden Stoffes liefern und aus denen sich meist neue Fragestellungen und weitere, auf deren Klärung abgestellte spezialisierte Untersuchungen entwickeln. Dabei sind auch biochemische Gesichtspunkte zu berücksichtigen, das Schicksal der Substanz im Organismus ist zu verfolgen und nicht zuletzt eventuell zu prüfen, ob vielleicht die Wirkungen anderer gleichzeitig

anwesender Stoffe beeinflußt werden könnten. Im einzelnen müssen manchmal die verschiedenartigsten Versuchsobjekte herangezogen werden. Experimente an Menschen kommen erst in Betracht, wenn bei besonderen Fragestellungen eine Entscheidung auf andere Art nicht möglich ist.

Es ist aber unmöglich, allein mit einer routinemäßig schematisierten Versuchstechnik ein zutreffendes Urteil über „die Toxicität" einer Substanz zu gewinnen. Routineuntersuchungen bedingen sogar eine gewisse Gefahr. Sie sind nämlich, wie Barnes[4] es ausgedrückt hat, stumpfsinnig und uninteressant, so daß sie möglicherweise auch an stumpfsinnigen und uninteressierten Leuten hängenbleiben. Dann könnte aber gerade das eintreten, was man zu verhindern hoffte: etwas Unerwartetes könnte nämlich unbemerkt bleiben oder in seiner Bedeutung nicht gewürdigt werden und damit durchschlüpfen.

Damit soll aber keineswegs behauptet werden, Routineversuche seien zwecklos. Sie können sehr wohl von Wert und mitunter sogar unentbehrlich sein, wie es etwa das Beispiel der biologischen Standardisierungsmethoden zeigt, die international für eine Reihe wichtiger Arzneimittel in Gebrauch sind, bei denen eine Auswertung mit chemischen oder physikalischen Untersuchungsmethoden noch nicht möglich ist. Ebenso können einfache Versuchsanordnungen den Bereich spezieller Untersuchungen vorläufig abgrenzen und dem dienen, was im angelsächsischen Schrifttum als „range finding" bezeichnet wird. Routineversuche können aber nie für sich allein das komplexe Bild der pharmakologisch-toxikologischen Wirkung einer Substanz zutreffend wiedergeben. Wenn eine spezielle, leicht zu verfolgende Veränderung sich für eine routinemäßige Prüfung zu eignen scheint, so muß im Einzelfall auch gründlich überlegt werden, ob der festgestellte Effekt überhaupt Bedeutung für die Beurteilung des in diesem speziellen Fall bestehenden Risikos besitzt (Frazer[20]).

Eine lebhafte Diskussion entsteht oft darüber, ob mit einem bestimmten Stoff langfristige Tierversuche angestellt werden müßten und wie diese anzuordnen wären. Wenn z. B. chemische Eigentümlichkeiten einer Substanz deren Prüfung auf carcinogene Wirkungen nahelegen, relativ kurzfristige Untersuchungen in dieser Richtung aber negativ verlaufen sind, wird man noch weitere Versuche über Jahre und vielleicht über mehrere Generationen erstrecken. Dabei können Meinungsverschiedenheiten darüber entstehen, auf welchem Wege der zu prüfende Stoff zu applizieren wäre. Eine Entscheidung ist in solchen Situationen nur von Stoff zu Stoff und unter Berücksichtigung verschiedenster Umstände möglich. Auf die vielseitigen Probleme der carcinogenen Substanzen soll hier nicht eingegangen werden. Es beleuchtet jedoch die Schwierigkeiten der Urteilsbildung über die möglichen toxischen Wirkungen einer Substanz, wenn zur Zeit auf internationaler Ebene ernstlich angeregt wird, den

Begriff der carcinogenen Wirkung schärfer zu erfassen und Kriterien für diese Wirkung aufzustellen. Das British Medical Journal[49] hat in diesem Zusammenhang die Tatsache, daß bestimmte Farbstoffe im Tierversuch sich als carcinogen erwiesen haben, der Beobachtung gegenübergestellt, daß auch Cholesterin carcinogen wirken kann; es weist nüchtern auf das Dilemma hin, die Gefährlichkeit eines Farbstoffs abzuschätzen, der als Carcinogen nicht wirksamer wäre als Cholesterin, aber in Mengen aufgenommen würde, die geringfügig wären im Vergleich mit der täglichen normalen Cholesterinzufuhr durch die Nahrung.

Man könnte meinen, die Zuverlässigkeit einer toxikologischen Aussage könnte in geeigneten Fällen durch Heranziehung freiwilliger Versuchspersonen wesentlich erhöht werden. Aber gerade hier ist besondere Vorsicht geboten; denn das seit längerem und unter Ausschaltung aller erdenklichen Fehlermöglichkeiten betriebene kritische Studium von Arzneimittelwirkungen am Menschen hat sehr aufschlußreiche Beobachtungen geliefert. Man hat Versuchspersonen vorübergehend im Blindversuch ein sogenanntes Placebo gegeben, d. h. Tabletten oder Einspritzungen und dergleichen, in denen das vom Arzt verordnete und vom Patienten erwartete Pharmakon gar nicht enthalten, sondern durch Stoffe ersetzt ist, die keine oder doch wenigstens nicht die hier in Frage stehende pharmakologische Wirkung besitzen. Bei dieser Anordnung sind in manchen Fällen in einem hohen Prozentsatz die gleichen oder doch annähernd die gleichen „therapeutischen Effekte" beobachtet worden wie bei Verabreichung des eigentlichen Pharmakons. Man kann dabei von einem Zauber der Arznei[25], von Magie und Zauber in der modernen Medizin[26] oder von seelischen Wirkungen der Arznei[7] sprechen.

Wichtiger für unser Thema ist, daß ein Placebo auch „toxische Effekte" geben kann. Die folgende Tabelle (nach Beecher[5]) gibt eine Zusammenstellung über die Häufigkeit subjektiver „toxischer Effekte", die in 4 verschiedenen amerikanischen Versuchsreihen beobachtet worden sind. In anderen Fällen sind auch objektive Symptome, wie ein akuter, juckender, erythematös-makulopapulärer Hautausschlag oder auch eine Kombination von Leibschmerzen und wäßrigen Durchfällen mit Urticaria und angioneurotischem Ödem der Lippen beobachtet worden[46].

Derartige Feststellungen mahnen zu großer Vorsicht bei einer Äußerung, ob bestimmte subjektive Angaben oder objektive Befunde wirklich in einem ursächlichen Zusammenhang mit der Einwirkung eines Stoffes stehen und als schädliche Wirkungen anzusehen wären.

Man darf auch nicht übersehen, daß bei der Beurteilung angeblicher Vergiftungen mit Phobien gerechnet werden muß. Heinrich Zangger[48] hat schon vor 30 Jahren aus seiner großen Erfahrung heraus betont, an den Gutachter träten zunehmend Phobien von Vergiftungen heran; wenn er zu Fällen komme, in denen eine Vergiftungsgelegenheit tatsächlich

vorliege, so handle es sich zu ungefähr 30% um eine Phobie oder ein falsches Gerücht, z. B. als Folge von Verwechslungen, Mißverständnissen oder Ängstlichkeit. Wohl jeder erfahrene Toxikologe hat selbst ähnliche Beobachtungen gemacht.

Eine kritische Erörterung der Urteilsmöglichkeiten im Bereich der Toxikologie kann ein Thema nicht übergehen, das vor einiger Zeit auch die breite Öffentlichkeit lebhaft interessiert hat: die Verwendung von Chemikalien in der modernen Lebensmitteltechnik. In der Diskussion über die hier bestehenden Zusammenhänge sind bezüglich des angeblichen Ausmaßes von Unsicherheiten und durch Giftwirkungen bedingten Gefahren im Bereich einer „unbekannten Wissenschaft" sehr extreme Auffassungen vertreten worden[15], die dann andere noch aufgegriffen haben.

Tabelle 1. *„Toxische Effekte" von Placebos*

Symptom	Häufigkeit
Wärmegefühl	6 von 77 = 8%
Abgespanntheit (relaxation)	5 von 57 = 9%
Mundtrockenheit	7 von 77 = 9%
Übelkeit	9 von 92 = 10%
Schlaf	7 von 72 = 10%
Konzentrationsschwäche .	14 von 92 = 15%
Müdigkeit (fatigue)	10 von 57 = 18%
Schweregefühl	14 von 77 = 18%
Kopfschmerzen	23 von 92 = 25%
Schläfrigkeit	36 von 72 = 50%

Die Öffentlichkeit hat davon durch die Presse erfahren und ist, im ganzen gesehen, leider weniger über die Sachlage aufgeklärt als vielmehr unnötig beunruhigt worden.

Erfreulicherweise ist die Unruhe inzwischen abgeklungen, so daß es fast unbemerkt geblieben ist, daß Bundesinnenminister Dr. Schröder in einer Stellungnahme zum Entwurf eines neuen Lebensmittelgesetzes alle wesentlichen Punkte des hierangedeuteten Fragenkomplexes folgendermaßen zusammengefaßt hat[41]: „Die Ausführungen zu dem Komplex „Fremdstoffzusätze" möchte ich mit einer kurzen Bemerkung über die Behandlung des Problems in der Öffentlichkeit abschließen. Es liegt mir durchaus fern, die gesundheitlichen Gefahren, die von diesen Zusätzen drohen, zu bagatellisieren. Diese Gefahren, die uns von objektiven und international anerkannten Wissenschaftlern dargelegt worden sind, stellen ja einen Hauptanlaß für den gegenwärtigen Gesetzentwurf dar und sind auch in der amtlichen Begründung zum Gesetzentwurf angedeutet worden. In der Verfechtung der Verbraucherforderung auf Reinheit der Lebensmittel ist aber leider in manchen Veröffentlichungen über das Ziel hinausgeschossen worden. Gut gemeinte Artikel, gelegentlich auch Vorträge, haben sich von Übertreibungen und unberechtigten Anschuldigungen nicht freigehalten; sie haben dadurch einerseits stellenweise eine unangebrachte Angst und Nervosität hervorgerufen und andererseits zum Schaden der Sache Widerspruch aus den Kreisen der Wirtschaft provoziert. Allerdings muß ich auch gewisse pseudo-wissenschaftliche und irreführende Äußerungen aus Wirtschaftskreisen bedauern, die das ernste Problem, das uns hier vorliegt, zu verharmlosen suchen; ja man ist sogar dafür eingetreten, daß eine aufrichtige Aufklärung des Verbrauchers über die Eigenschaften der ihm angebotenen Lebensmittel unterbleibt oder daß wirtschafts- bzw. handelspolitische Rücksichten dem Verbraucherschutz übergeordnet werden. Dem gegenüber muß ich erklären, daß der Schutz des Verbrauchers, der Schutz seiner Gesundheit auch gegen mittelbare Beeinträchtigungen

und der Schutz gegen Übervorteilung und Täuschung unter allen Umständen den Vorrang vor jedem wirtschaftspolitischen Argument behalten muß." Diesen Ausführungen wird jeder Sachkundige beipflichten.

Es ist keineswegs zu verkennen, daß die hier zu erörternden Äußerungen einem höchst anerkennenswerten Bemühen um die Ausschaltung möglicher Gefahren entspringen und daß zugleich auch allgemein anerkannte Grundsätze vertreten werden, deren Verbreitung und Beachtung nur zu begrüßen ist. Es kann aber ebensowenig verkannt werden, daß gerade für manche Formulierungen, die vor allem Nichtpharmakologen besonders beeindrucken könnten, die Zitierung nachprüfbarer Unterlagen fehlt.

Bei Erörterung von „Bagatellisierungsversuchen[15l]" wird z. B. gesagt, die allergefährlichste Art der Bagatellisierung sei vielfach das wissenschaftliche Gutachten; denn vornehmlich durch Vorlage wissenschaftlicher Gutachten sei die derzeitige — nach Meinung des Autors — „gefährliche Situation" entstanden[15n]. Dieser scheinbar schwerwiegende Vorwurf ist durch keinen konkreten Beleg oder Hinweis gestützt, der eine Schädigung oder Gefährdung „durch Vorlage wissenschaftlicher Gutachten" nachweisen könnte. Er ist um so unverständlicher, als andererseits — diesmal völlig zutreffend (vgl. S. 11) — gesagt wird: „Mit keinem heutigen Untersuchungsverfahren . . . (läßt sich) . . . Unbedenklichkeit mit absoluter Sicherheit garantieren; ein gewisses Risiko bleibt auch bei gewissenhaftester Untersuchung immer zurück[15a]", „auch das gewissenhafteste Gutachten über den einzelnen Stoff (ist) unvollständig[15h]", „das Gesamtbild wird man nie erkennen können[15o]".

Im Bereich *aller* Wissenschaften, nicht nur der Toxikologie, veranlassen immer wieder neue Erkenntnisse die Revision einer bisher bestehenden Auffassung. Es ist nichts Neues, daß sich im Laufe der letzten Jahrzehnte im Gesamtbereich der Toxikologie die anfängliche Beurteilung einer Reihe von Stoffen infolge inzwischen bekannt gewordener Tatsachen geändert hat und daß auch in der Lebensmitteltechnik die Verwendung einiger Substanzen eingestellt worden ist auf Grund von Beobachtungen, die nicht vorhergesehen werden konnten. Die zuständigen Behörden und die sachverständigen Gremien, die hier und auf anderen Gebieten (vgl. S. 16 und S. 52) zuständig sind, verfolgen die Situation laufend und revidieren ihre Stellungnahme schon dann, wenn — wie z. B. im Falle des Buttergelbs (vgl. S. 73) — zwar keine Schädigungen von Menschen bekannt werden, aber doch andere unerwartete Beobachtungen Bedenken erwecken.

Unhaltbar ist ferner die weit übertriebene wiederholte Behauptung, es fänden sich „1000 Stoffe im regelmäßigen Lebensmittelkonsum[15d]" oder es könnten sich 1000 Stoffe darin finden[15c].

„Stoffe" könnten in dem hier vorliegenden Sinne nur Substanzen sein, die in den der Natur entnommenen Lebensmitteln nicht vorkommen, sondern nur in der modernen Lebensmitteltechnik zu bestimmten Zwecken verwendet werden. Ihre tatsächliche Zahl wird von Sachkennern auf 60 bis rund 100[29] geschätzt.

Offenbar ist bei den „1000 Stoffen" eine „besondere deutsche Liste" gemeint, die angeblich „über 1000 chemische Stoffe" enthält, nicht veröffentlicht ist und zudem noch — in Kleindruck — dahin kommentiert wird, es werde nicht behauptet, „daß diese 1000 und mehr Stoffe ununterbrochen im regelmäßigen Lebensmittelkonsum zu finden sind; vielleicht ist ein Teil dieser Stoffe nur durch Patentanmeldungen u. a. bekannt geworden[15b]".

Was diese Liste umfassen könnte, läßt sich vermuten, obwohl ihr Text im wissenschaftlichen Schrifttum nicht zu finden ist: es könnte eine Zusammenstellung von Substanzen sein, die zum Teil tatsächlich in der Lebensmitteltechnik angewandt werden, zum Teil lediglich in der Literatur oder auch in Patentschriften als geeignet genannt sind, in Wirklichkeit aber *nicht* verwendet werden. Die Annahme, daß sich ein wesentlicher Teil dieser angeblich mehr als 1000 Stoffe in Wirklichkeit *nicht* „im Lebensmittelkonsum" und schon gar nicht „im regelmäßigen Lebensmittelkonsum" befindet, ist um so begründeter, als alle bisher bekannten Zusammenstellungen der tatsächlich in der Lebensmitteltechnik benutzten Zusätze und sonst noch vorkommenden Fremdstoffe ganz wesentlich weniger Substanzen aufführen.

Nachdem im Jahre 1952 die amerikanische Food and Drug Administration eine ebenfalls nicht publizierte Liste von 704 Substanzen zusammengestellt hatte[42], ist im Jahre 1956 von dem S. 16 schon erwähnten Food Protection Committee ein Verzeichnis veröffentlicht worden[44], das rund 550 in den Vereinigten Staaten in standardisierten Lebensmitteln zugelassene oder bei der Herstellung nicht standardisierter Lebensmittel verwendete Substanzen umfaßt. Es stellt, wie ein vom Council on Foods and Nutrition autorisierter Kommentar betont, eine realistische und unvoreingenommene Übersicht über die Verwendung von Chemikalien in der amerikanischen Lebensmitteltechnik dar und sollte etwas von der Furcht beseitigen, die manchenorts wegen der Verwendung dieser Stoffe bestanden hat und gleichzeitig dazu beitragen, Art und Umfang der damit verbundenen Probleme zu verstehen[42].

Diese in Amerika gebrauchten Zusätze umfassen unter anderem rund 300 Geruchs- und Geschmackskorrigentien — Naturprodukte und daraus bereitete ätherische Öle und Extrakte wie auch die entsprechenden synthetisch gewonnenen Aromastoffe — sowie einige natürliche und die zugelassenen synthetischen Farbstoffe, ferner saure, alkalische und als Puffer dienende Substanzen — wobei manche Säuren bzw. Anionen als Natrium-, Kalium-, Ammonium- und Calciumsalze, zum Teil auch noch als Magnesiumsalze, erscheinen und dadurch mehrfach gezählt werden. Auch Vitamine und Mineralstoffe werden in beträchtlicher Zahl aufgeführt. Unter den Mitteln, die im wesentlichen der Beeinflussung physikalischer Eigenschaften bestimmter Lebensmittel dienen, den Emulgatoren, oberflächenaktiven Stoffen, Stabilisatoren und Dickungsmitteln, finden sich ebenso wie unter den Konservierungsmitteln wieder natürliche und synthetische Materialien nebeneinander. Den weitaus größten Teil der ganzen Zusammenstellung machen Stoffe aus, die ohnehin als Bestandteile natürlicher Lebensmittel oder Gewürze bekannt sind oder aus solchen bereitet werden, wie z. B. Essig, Gelatine und Kognak. Die Bearbeiter dieser amerikanischen Zusammenstellung haben das gar nicht hoch genug zu schätzende Verdienst, Klarheit geschaffen zu haben, mit welchen Stoffen die Toxikologie im Bereich der Lebensmitteltechnik tatsächlich zu rechnen hat. Sie haben damit zugleich die Möglichkeit geschaffen, die relativ wenigen Stoffe schärfer ins Auge zu fassen, die z. B. als Antioxydantien, Bleich- oder Konservierungsmittel

oder zu der erwähnten Beeinflussung physikalischer Eigenschaften dienen sollen, in der Chemie der Naturstoffe aber unbekannt oder zum Teil biochemisch noch unzulänglich charakterisiert sind. Hier, bei einigen Dutzenden von Stoffen, bestehen echte toxikologische Probleme, deren wissenschaftlich-experimentelle Klärung inzwischen, nebenbei bemerkt, zum Teil bereits vorliegt und im übrigen im Gange ist.

Eine besonders krasse Übertreibung tatsächlich festgestellter Effekte ist die Behauptung, die schweflige Säure sei „heute als der große Zerstörer des Vitamingehalts der Pflanze[15i]" oder gar „als der große Vitaminzerstörer in unseren Lebensmitteln entlarvt worden[15m]", die Zerstörung von Vitaminen sei ihre gravierendste Eigenschaft[15k]. Die Quelle für diese sicher publikumswirksamen Formulierungen dürften einige Arbeiten von Morgan[35,36] sein, die eine *teilweise Zerstörung des Vitamins* B_1 in geschwefeltem Trockenobst zeigen. Gleichzeitig bringen sie aber den Nachweis, daß durch die Schwefelung der Früchte deren *Gehalt an Vitamin A und besonders an Vitamin C ausgesprochen konserviert* worden ist. Selbst wenn eine Verminderung des Gehalts an Vitamin B_1 als bedenklich anzusehen wäre, so dürfte daneben die gleichzeitige Konservierung anderer nicht weniger wichtiger Vitamine nicht ignoriert und schon gar nicht von einer Zerstörung „des Vitamingehalts der Pflanze" gesprochen werden.

Ausführungen über die angebliche Gefährlichkeit der „toxischen Gesamtsituation auf dem Gebiete der menschlichen Ernährung[15]" argumentieren zum Teil mit der Annahme einer Addition, zum Teil mit der einer Potenzierung schädlicher Wirkungen. Bezüglich der letztgenannten ist zunächst darauf hinzuweisen, daß ein *Gesetz*[15e] über die Potenzierung der Effekte gleichzeitig wirkender Stoffe *nicht* existiert; die hier gemeinte *Regel* ist keineswegs allgemein anerkannt und überdies von Bürgi nur für Stoffe mit ohnehin starker Eigenwirkung aufgestellt worden. Ganz abgesehen hiervon betreffen sämtliche aus der toxikologischen Literatur zitierten bekannten Beispiele von „Potenzierung" — Kalkstickstoff-Alkohol[15f], Anilin-Alkohol[15f], Physostigmin-Acetylcholin[15g], Antabus-Alkohol[15g] — nur das Zusammenwirken von Substanzen, von denen jede für sich allein bereits eine eindeutige, starke toxikologische Wirkung besitzt. Bei keinem der eben genannten Stoffe könnte diese Toxicität bei einer in heute üblicher Weise durchgeführten toxikologischen Prüfung übersehen werden. Jede dieser Substanzen wirkt überdies weitaus stärker als irgendeine der Verbindungen, die hier als Lebensmittelzusätze zur Diskussion stehen. Es ist durch kein einziges Beispiel belegt und darf als sehr unwahrscheinlich gelten, daß irgendwelche Stoffe, die sich bei der üblichen toxikologischen Prüfung als relativ harmlos erweisen — Substanzen, die in der praktisch zu verwendenden Konzentration stark toxisch wären, kommen als Lebensmittelzusätze selbstverständlich überhaupt nicht in Betracht — plötzlich beim Zusammentreffen mit

anderen Substanzen gänzlich unerwartete starke Effekte auslösen würden.

Die Frage, ob mit einer Addition toxischer Wirkungen zu rechnen wäre, sei an Hand einiger Beispiele aus dem täglichen Konsum einer gedachten Normalperson erörtert (vgl. Tab. 2).

Tabelle 2

Tageskonsum	„Gift"	„Prozent der tödlichen Dosis"
10 g Kochsalz	10 g Kochsalz	4
$^2/_4$ l Wein	40 g Alkohol	16
20 Zigaretten	4% COHb[23]	6
20 Zigaretten	650 cm³ CO[40,14]	76
10 g Pfeifentabak	750 cm³ CO[14]	88
20 Zigaretten		
a) im Rauch	54 mg Nicotin[47]	90
b) im Tabak	264 mg Nicotin[47]	440

Für einen gesunden Erwachsenen wäre die akute Aufnahme von 250 g Kochsalz höchstwahrscheinlich tödlich. Sein täglicher Durchschnittsverbrauch von 10 g Kochsalz macht 4% dieser akut tödlichen Dosis aus; die in 25 Tagen verbrauchte Gesamtdosis würde bei akuter Einnahme den Tod herbeiführen. Werden täglich 2 Viertelliter Wein oder eine im Alkoholgehalt äquivalente Menge von Bier, Weinbrand oder dergleichen genossen, so entspricht diese Tagesdosis 16% der für den Erwachsenen sehr wahrscheinlich akut tödlichen Alkoholmenge. Raucht die Normalperson täglich 20 Zigaretten, so enthält ihr Blut am Abend ungefähr 4% Kohlenoxydhämoglobin, d. h. rund 6% von dem Gehalt, der durchschnittlich bei Kohlenoxydtoten gefunden wird. Durch Summieren der genannten Bruchteile tödlicher Dosen — zu „26% der tödlichen Dosis" — könnte der Trugschluß entstehen, eine Person, die diese Tagesmenge von Kochsalz, Alkohol und Zigaretten 4 Tage hindurch konsumierte, müßte daran sterben.

Betrachtet man statt des nach Ablauf eines Tages *vorhandenen* das beim Rauchen insgesamt *entstandene und inhalierte* Kohlenoxyd, so macht dieses bei 20 Zigaretten 76% von der Menge aus, die sich durchschnittlich bei tödlicher Kohlenoxydvergiftung in der Leiche findet; der Raucher hat im Laufe des Tages 76% und beim Verbrauch von 10 g Pfeifentabak sogar 88% der akut tödlichen Kohlenoxydmenge inhaliert! Ein noch beängstigenderes Trugbild entsteht, wenn die aus 20 Zigaretten in den Rauch übergehende Nicotinmenge oder gar der Gesamt-Nicotingehalt des verrauchten Tabaks — nicht des in 20 Zigaretten insgesamt enthaltenen — in Beziehung zu einer älteren toxikologischen Angabe[29] über die akut tödliche Nicotindosis gesetzt wird: dabei kommen 90 bzw. 440% dieser als akut tödlich geltenden Dosis heraus!

Schon die tägliche Lebenserfahrung läßt keinen Zweifel darüber, daß es nur zu unsinnigen Trugschlüssen führen könnte, wenn jemand versuchen wollte, die mit dem Genuß von Kochsalz, Alkohol und Tabak unzweifelhaft verbundenen Gefahren oder die dabei gegebene „toxische Gesamtsituation" auf Grund einer Addition der in Tab. 2 aufgeführten, mit dem Tageskonsum verbundenen „Prozente der tödlichen Dosis" zu

beurteilen. Eine sachgemäße pharmakologisch-toxikologische Analyse der Situation entzieht derartigen Trugschlüssen vollends die scheinbare Begründung.

Beim Kochsalz beginnt gleichzeitig mit der Aufnahme auch die Ausscheidung, die bei gesunden Nieren im Laufe eines Tages vollständig ist, sofern die entsprechende Wassermenge verfügbar ist. Die aufgenommene Alkoholmenge wird zwar nur zum kleinen Teil wieder ausgeschieden, im wesentlichen aber bei intaktem Stoffwechsel im Laufe des Tages verbrannt. Kohlenoxydhämoglobin entsteht während des Rauchens nur langsam, sein Gehalt im Blut geht bei Einatmung frischer Luft wieder zurück, außerdem werden die an sich mit dem Rauch inhalierten 650 oder 750 cm^3 Kohlenoxyd nur zu einem geringen Bruchteil resorbiert und an Hämoglobin gebunden. Beim Nicotin schließlich geht der größte Teil des im verrauchten Tabak vorhandenen Alkaloids überhaupt nicht als solches in den Rauch über, von dem mit dem Rauch inhalierten wird nur ein Teil resorbiert und dann ausgeschieden oder abgebaut.

Alle 4 hier herausgegriffenen Stoffe sind notorische Gifte, alle haben tödliche Vergiftungen verursacht, alle würden bei bestimmten Störungen der normalen Körperfunktionen in den von der angenommenen gesunden Normalperson konsumierten Mengen toxisch wirken. Wenn sie dem normalen Organismus jahraus-jahrein in Tagesmengen von 4—16% der jeweils akut tödlichen Dosis ohne erkennbare Schädigung zugeführt werden können, so zeigt dies, in welchem Ausmaß dem Körper durch die vielfältigen Prozesse des Stoffwechsels Mittel und Wege zur Verfügung stehen, um auch starke, gleichzeitig nebeneinander einwirkende Gifte ungefährlich werden zu lassen. Andererseits ist es völlig ausgeschlossen, daß auch nur in einem Einzelfall irgendeiner der heute bekannten Lebensmittelzusätze von einem Menschen mit der normal bereiteten Nahrung in einer Menge von 4 oder gar 16% der akut tödlichen Dosis aufgenommen werden könnte. Die heutige pharmakologisch-toxikologisch-biochemische Untersuchungstechnik und die damit gewonnene Erfahrung bietet hinreichend Möglichkeiten, eine Substanz von bekannter chemischer Konstitution zu prüfen, ob sie sich unter den vorgesehenen Verwendungsbedingungen in die normalen Stoffwechselprozesse einfügen oder diese Prozesse stören würde. Im zweiten Falle könnte ihrer Verwendung nicht zugestimmt werden.

Wenn sich die Substanz aber bei einer sorgfältigen, dem heutigen Stande der Wissenschaft entsprechenden toxikologischen Prüfung als relativ harmlos erweist, so darf die Entscheidung, ob ihre Verwendung für einen bestimmten Zweck als unbedenklich gelten könnte, nicht durch unbewiesene Hypothesen beeinflußt werden. Der Toxikologe hat bei seiner Beurteilung der Situation genau zu unterscheiden, wie weit Feststellungen und wie weit nur Vermutungen vorliegen. Er muß aus seiner fachlichen Erfahrung heraus und auf Grund seiner experimentellen Möglichkeiten urteilen und handeln. Er befindet sich in ähnlicher Situation wie etwa ein Lotse, dem es seine seemännische Erfahrung und seine

Kenntnis des Fahrwassers unter Benutzung der navigationstechnischen Einrichtungen des Schiffes auch dann ermöglichen, die Anweisungen zu geben, die er geben muß, wenn ihm die direkte Sicht durch Nebel behindert wird; dessen Aufgabe es aber nicht ist, dem Kapitän und den Passagieren auszumalen, was alles passieren könnte, wenn plötzlich tausend schlimme Ereignisse eintreten würden.

Bei der experimentellen Bearbeitung und gutachtlichen Beurteilung toxikologischer Spezialfragen, die durch die besonderen Umstände der Verwendung zahlreicher Stoffe im einzelnen entstehen, erfüllt der Toxikologe häufig zugleich die verantwortungsvolle Aufgabe, im Verein mit Sachverständigen aus anderen Spezialgebieten für Behörden und gesetzgebende Organe die Unterlagen für eine Beurteilung bestehender oder möglicher Gefahren und für eventuell zu treffende Maßnahmen zum Schutz der Gesamtbevölkerung oder bestimmter Berufskreise gegen solche Gefahren zu schaffen. Er braucht für seine Experimente Bewegungsfreiheit in der Wahl der Versuchsanordnung und Zeit für die Abwicklung eines rationellen, kritisch zu planenden und den Einzelzügen des jeweiligen Problems folgenden Versuchsprogramms, das zum Teil auch in Zusammenarbeit mit Vertretern anderer Disziplinen aufzustellen und durchzuführen ist. Die Beurteilung einer manchmal vielfältig verflochtenen Situation bedarf aber keiner „unbekannten Wissenschaft". Sie kann durch Spekulationen mitunter Anregungen in bestimmter Richtung erfahren, ist aber stets nur durch kritische Auswertung zuverlässiger und auf das Wesentliche des vorliegenden Falles abgestellter Beobachtungen möglich.

Literatur

[1] Albahary, C.: Maladies médicamenteuses d'ordre thérapeutique et accidentel. Paris: Masson et Cie. 1953. — [2] Bahr, D. P.: J. Amer. Med. Assoc. **159**, 1452 (1955). — [3] Barnes, J. M., u. F. A. Denz: Pharmacol. Rev. **6**, 191 (1954). — [4] Barnes, J. M.: Voeding **16**, 390 (1955). — [5] Beecher, H. K.: J. Amer. Med. Assoc. **159**, 1602 (1955). — [6] Bowditch, M., C. K. Drinker, Ph. Drinker, H. H. Haggard u. A. Hamilton: J. Industr. Hyg. a. Toxicol. **22**, 251 (1940). — [7] Clauser, G.: Dtsch. med. Wschr. **1956**, 370. — [9] Coleman, A. L.: Arch. Ind. Health **12**, 685 (1955). — [8] Coleman, A. L., W. L. Ball, H. E. Stokinger, W. H. Reinhart, A. J. Vorwald, L. T. Fairhall, R. S. Smith and S. D. Silver: Arch. Ind. Health **14**, 186 (1956). — [10] Committee on Air Pollution: Interim Report, London, H. M. Stat. Office 1953. — [11] Committee on Air Pollution: Report, London, H. M. Stat. Office 1954. — [12] Drinker, C. K.: J. Industr. Hyg. a. Toxicol. **21**, 155 (1939). — [13] Duchesnay, G.: Le risque thérapeutique, Paris: Doin & Cie. 1954. — [14] Zit. nach Duvoir, M., et L. Truffert: Arch. Mal. profess. **5**, 82 (1944). — [15] Eichholtz, F.: Die toxische Gesamtsituation auf dem Gebiet der menschlichen Ernährung., Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer 1956; a S. 11; b S. 16; c S. 26; d S. 88, 90, 148; e S. 89; f S. 89; g S. 90; h S. 93; i S. 98; k S. 109; l S. 141; m S. 154; n S. 156; o S. 157. — [16] Elkins, H. B.: The chemistry of industrial toxicology, New York 1951. — [17] Fairhall, L. T., C. E. Couchman, F. R. Ingram, L. F. Garber and J. Shilen: Arch. Industr. Hyg. a. Occupat. Med. **2**, 98 (1950). — [18] Flury, F.:

Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **138**, 65 (1928). — [19] Food Protection Committee National Academy of Sciences: Principles and procedures for evaluating the safety of intentional chemical additives in foods, Washington 1954. — [20] Frazer, A. C.: Voeding **16**, 418 (1955). — [21] Gaddum, J. H.: Pharmacol. Rev. **5**, 87 (1953). — [22] Greenwald, I.: Arch. Industr. Hyg. a. Occupat. Med. **10**, 455 (1954). — [23] Hanson, H. B., and A. B. Hastings: J. Amer. Med. Assoc. **100**, 1481 (1933). — [24] Hemeon, W. C. L.: Arch. Ind. Health **11**, 397 (1955). — [25] Heubner, W.: Hippokrates **25**, 498 (1954). — [26] Jores, A.: Dtsch. med. Wschr. **1955**, 915. — [27] Keeser, E.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **218**, 63 (1953). — [28] Kobert, R.: Lehrbuch der Intoxikationen II S. 1064, Stuttgart 1906. — [29] Lang, K.: Dtsch. med. Wschr. **1957**, 97. — [30] Lehmann, K. B.: Kurzes Lehrbuch der Gewerbehygiene (1919). — [31] Loeser, A.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **218**, 36 (1953). — [32] Logan, W. P. D.: Lancet **1**, 78 (1949); **1**, 336 (1953). — Brit. Med. J. **1**, 722 (1956). — [33] McCabe, L. C., a. G. D. Clayton: Arch. Industr. Hyg. a. Occupat. Med. **6**, 199 (1952). — [33a] Manville, I. A., and R. Moser: Arch. Ind. Health **12**, 528 (1955); dort ältere Lit. — [34] Meyler, L.: Schädliche Nebenwirkungen von Arzneimitteln, Wien: Springer 1956, vgl. auch Alexander, H. L.: Reactions with drey theraphy, Philadelphia—London: Saunders 1955. — [35] Morgan, A. F.: Amer. J. Publ. Health **25**, 328 (1935). — [36] Morgan, A. F., L. Kimmel, A. Field and P. Nichols: J. Nutrit. **9**, 369 (1935). — [37] Oettel, H.: Arch. Toxikol. **15**, 42 (1954). — [39] Orthner, H.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **218**, 67 (1953). — [38] Rossmann, H.: Zbl. Arbeitsmed. u. Arbeitsschutz **5**, 112 (1955). — [40] Schöller (1929), zit. nach Wirth: Zbl. Gewerbehyg. N. F. 8, 289 (1931). — [41] Schröder, G.: Bulletin Presse- u. Inform.-Amt d. Bundesregierung Nr. 234, 2237 (1956). — [42] Stevenson, E. H.: J. Amer. Med. Assoc. **162**, 572 (1956). — [43] Tzanck, A.: zit. bei Albahary. — [44] Use of chemical additives in food processing, Report by the Food Protection Committee, Publication 398, National Academy of Sciences, National Research Council (1956). — [45] Wilkins, E. T.: zit. nach P. Drinker: Arch. Industr. Hyg. a. Occupat. Med. **9**, 247 (1954). — [46] Wolf, S., and R. H. Pinsky: J. Amer. Med. Assoc. **155**, 339 (1954). — [47] Wolman, W., and R. R. Stark: J. Amer. Med. Assoc. **157**, 1309 (1955). — [48] Zangger, H.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **138**, 82 (1928). — [49] Brit. Med. J. **1956**, I, 221.

O. R. Klimmer (Bonn): Toxikologie der Schädlingsbekämpfungsmittel

Unter dem Begriff Schädlingsbekämpfungsmittel (SBM) verstehen wir die zahlreichen, chemisch und physikalisch so verschiedenen Hygiene-, Pflanzenschutz- und Vorratsschutzmittel, die man auch als Acaricide, Fungicide, Herbicide, Insektizide und Rodenticide bezeichnet. Ihre Existenz, d. h. ihre Großherstellung und -anwendung, verdanken diese Stoffe der Zwangslage, die Nahrungsproduktion zu steigern, d. h. Nutzpflanzen und Tiere vor Schädlingen aller Art zu schützen und die Ernteprodukte vor drohenden Verlusten zu bewahren. Die Notwendigkeit der sich aus den zunehmenden Indikationen ergebenden breiten Anwendung von Schädlingsbekämpfungsmitteln wird daher heute allgemein anerkannt.

Eine Reihe von SBM, vor allem solche mineralischer und pflanzlicher Herkunft, sind seit langem bekannt (Arsen-, Kupfer-, Schwefel-Verbindungen, ferner Nicotin, Pyrethrum, Rotenon, Strychnin u. a. m.). Die

in den letzten 20 Jahren neugeschaffenen, synthetischen Mittel bedeuten für die Toxikologie ein fast völlig neues Arbeitsgebiet[34a,163,190]. Näherhin geben gerade diese, von der Technik zur Verfügung gestellten und ständig an Zahl zunehmenden chemisch, physikalisch und pharmakologisch so verschiedenen Stoffe samt ihren Zusatzstoffen, Lösungsvermittlern[67,157], Haftstoffen und ihren Verunreinigungen dem Toxikologen eine Anzahl von Problemen auf, die man in zwei Gruppen teilen kann:

A. Das gewerbetoxikologische Problem

Da es sich bei den meisten SBM um echte Gifte handelt, d. h. um Stoffe, die schon in kleinen und kleinsten Mengen eine charakteristische, schädigende Wirkung auf Schädlinge, Nutztiere und Menschen besitzen, und die in größtem Umfange hergestellt, von Fachleuten und Laien unter den verschiedensten Umständen gelagert, gebrauchsfertig gemacht und angewendet werden (wobei Fahrlässigkeit, Mißbrauch und menschliches Versagen nicht auszuschließen sind), galt es, zunächst die Größenordnungen der Giftigkeit und Gefährlichkeit der einzelnen Mittel festzustellen, sehr giftige und gefährliche Mittel und Anwendungsmethoden durch harmlosere zu ersetzen, und geeignete Schutz- und Therapiemaßnahmen zu entwickeln. Hierzu bedurfte und bedarf es neben der Auswertung der Vergiftungsfälle an Mensch und Nutztier und der Luftanalyse am Arbeitsplatz vor allem des Tierexperimentes, und, soweit dies möglich ist, der Untersuchung gewisser Wirkungen an freiwilligen Versuchspersonen, wo die Aussagefähigkeit der Tierexperimente nicht mehr genügt.

Eingehende biochemische, chemisch-analytische und pharmakologisch-toxikologische Untersuchungen haben in den letzten Jahren das Schicksal einer Reihe wichtiger Stoffe aus der Reihe der Schädlingsbekämpfungsmittel im pflanzlichen und tierischen Organismus verfolgen, ihren Wirkungsmechanismus zum Teil klären und die Angriffspunkte im Schädlings- und Warmblüterorganismus abgrenzen können. Dies gilt vor allem für die insecticiden chlorierten Kohlenwasserstoffe*, für die Alkylphosphate**, für die fungiciden Dithiocarbamate***, für die 4-Oxycumarinverbindungen, die als Rodenticide gebraucht werden+, für die Nitroalkylphenole++. Über die akute und chronische Giftwirkung insecticider chlorierter Kohlenwasserstoffe auf Mensch und Nutztier liegen

---

* 3, 4, 5, 7, 8, 12, 13, 14, 25, 30, 33, 42, 43, 44, 46, 48, 49, 50, 55, 56, 57, 74, 75, 76, 83, 84, 85, 86, 87, 88 95, 97, 98, 107–111, 118, 120, 121, 123, 139, 140, 156, 160, 162, 165, 177, 179.

** 9, 10, 16, 20, 22, 29, 34, 36–38, 41, 52, 53, 54, 60–66, 70–72, 79–80, 94, 97, 99, 100, 102, 103–106, 122, 125, 126, 130–133, 143, 144, 146 147–150, 157a, 166–169, 188.

*** 11, 116, 117, 137, 142, 153, 158, 171, 172.

\+ 73, 93, 101, 129.

++ 26, 27, 28, 31, 45, 96, 154, 155.

zahlreiche Berichte vor, in einem Teil der Fälle konnte auch eine allergisierende Wirkung dieser Stoffe beobachtet werden*.

Verglichen mit der Situation in den Jahren unmittelbar nach dem letzten Kriege sind vom toxikologischen und gewerbehygienischen Standpunkte aus deutliche Fortschritte erzielt worden:

1. Die wichtigsten Schädlingsbekämpfungsmittel sind nach dem Grade ihrer Giftigkeit und Gefährlichkeit, der sich nicht nur aus ihrer oralen Toxicität, sondern vor allem auch aus ihrer Wirkung bei Resorption durch die Haut und die Atemorgane ergibt, charakterisiert[137,138] und dementsprechend den Giftverordnungen oder Verordnungen über den Verkehr mit hochgiftigen Stoffen bzw. giftigen Pflanzenschutzmitteln in den einzelnen Ländern unterstellt worden.

Bei der World Health Organization besteht ein „Committee on Insecticides" aus Fachleuten aller Länder, das die neuesten Ergebnisse auf anwendungstechnischem, analytischem und toxikologischem Gebiete auswertet und in Arbeitsberichten veröffentlicht[190]. Als Beispiel einer Einstufung der wichtigsten Schädlingsbekämpfungsmittel in eine Polizeiverordnung sei die in der Tab. 1 vereinfacht wiedergegebene, derzeit gültige Regelung in der westdeutschen Bundesrepublik angeführt (Aus: Bundesgesetzblatt, Jg. 1956, Teil I, Seiten 746—748).

2. Sehr giftige und gefährliche Stoffe sind, zumindest in der Praxis des westdeutschen Wirtschaftsgebietes, teilweise durch weniger giftige und gefährliche ersetzt worden: Die Alkylphosphate HETP, TEPP, OMPA und Äthylsystox sind aus der Pflanzenschutzpraxis entweder verdrängt oder doch weitgehend durch die in den letzten Jahren geschaffenen Stoffe wie Chlorthion, Diazinon, Dipterex, Malathion und Metasystox** zurückgedrängt worden. Auf Grund dieser Tatsache und der besseren Aufklärung der Anwender von SBM durch Hersteller und Pflanzenschutzämter ist die Anzahl der in landwirtschaftlichen Betrieben bei der Anwendung auftretenden Vergiftungsfälle durch Schädlingsbekämpfungsmittel immer mehr zurückgegangen. Bei weitaus den meisten bekanntgewordenen Vergiftungsfällen durch SBM handelte es sich entweder um die Folgen eines grobfahrlässigen, vorschriftswidrigen Verhaltens oder um Mißbrauch zu Selbstmord- und Mordzwecken[190d u. e].

3. An Hand zahlreicher analytischer Untersuchungen in den Betrieben, Beobachtungen am Menschen und Tierversuchen werden seit einigen Jahren von der „Amerikanischen Konferenz der Regierungsgewerbehygieniker" die maximal zulässigen Arbeitsplatzkonzentrationen für die wichtigsten Schädlingsbekämpfungsmittel diskutiert und in der Liste der „MAK-Werte" aufgeführt[40], wie aus der Zusammenstellung in Tab. 2 hervorgeht. Seit einigen Jahren besteht auch in der Westdeutschen

* 24, 59, 74–76, 98, 112, 115, 124, 128, 134–136, 160, 174, 177, 179.

** 47, 62, 92, 99, 120, 125, 126, 127, 130, 146.

Bundesrepublik ein derartiges Gremium im Rahmen der „Deutschen Gesellschaft für Arbeitsschutz" (Oettel [152]) bzw. eine Kommission bei der Deutschen Forschungsgemeinschaft, die sich mit derartigen Fragen bei den wichtigsten Arbeitsstoffen beschäftigt. In diesen Rahmen gehören ferner die durch Mithilfe privater und amtlicher Stellen ermöglichten Untersuchungen über die chronische Wirkung kleinster Mengen von Phosphorwasserstoff auf den Warmblüter (Klimmer) sowie die Versuche, in denen handelsübliches und radioaktives Metasystox mittels älterer und neuerer Verfahren angewendet und die Konzentrationen in der Luft unter praktischen Bedingungen ermittelt wurden. Dabei wurden je nach Verfahren Konzentrationen von 0,55—3,5 mg M/m³ Luft im Freien und solche von 0,2—1,7 mg M/m³ im geschlossenen Gewächshaus festgestellt[127].

4. Während die chemische Industrie bereits seit längerem Routineuntersuchungen ihrer Arbeiter zwecks Frühdiagnose einer Schädigung durch Schädlingsbekämpfungsmittel durchführt (Urin- und Blutbildkontrollen, Leberfunktionsprüfungen und Kontrolle der Cholinesteraseaktivität im Blute), sind neuerdings auch landwirtschaftliche Arbeiter untersucht worden*. Hierher gehört die von Pfaff[159] durchgeführte Überwachung der Cholinesterase bei landwirtschaftlichen Arbeitern während einer Großanwendung von Äthylsystox und die von Klimmer u. Pfaff[127] an freiwilligen Versuchspersonen durchgeführte Bestimmung der ChE-Aktivität, die Aufschluß über die Inhalationstoxicität von Metasystox und die Gefährdung von ungeschützten Arbeitern in Gewächshäusern erbringen sollte. Bei einer Metasystoxkonzentration, die je nach der Art des Anwendungsverfahrens zwischen 0,2 und 1,7 mg M/m³ Luft lag, und einer täglichen Arbeitszeit von 5—6 Std, ergaben die täglich vorgenommenen ChE-Bestimmungen auch nach 5 Tagen keine mit dem manometrischen Verfahren nach Ammon feststellbare signifikante Hemmung der Pseudo- und Acetylcholinesterase des Blutes.

5. Im speziellen Falle der akuten Vergiftung mit Alkylphosphaten, bei der neben Sauerstoffzufuhr, künstlicher Atmung, Peristoninfusion, Kreislaufmitteln die hohe Atropinmedikation an der Spitze der therapeutischen Maßnahmen stand**, bahnt sich statt der symptomatischen, nicht ganz befriedigenden Therapie eine neue, kausale an. Wilson, Ginsburg und Meislich haben erstmals auf Grund theoretischer Überlegungen Hydroxylamin und seine Derivate bei der Alkylphosphatvergiftung am Tier untersucht und gefunden, daß Hydroxamsäurederivate und Aldoxime die inaktivierte, d. h. phosphorylierte Cholinesterase durch Abtrennung der Alkylphosphatgruppe wirksam reaktivieren können;

* 2, 16, 19, 23, 32, 51, 77, 78, 97, 141, 144a, 161, 173, 183, 190, sowie private Mitteilung von Werksärzten.

** 103, 104, 113, 114, 184, 185.

Tabelle 1

Die an Hand vielfältiger Tierexperimente, in Versuchen an freiwilligen Personen und durch Auswertung von Vergiftungsfällen am Menschen ermittelten Toxicitätswerte der einzelnen Schädlingsbekämpfungsmittel haben in Deutschland ihren Niederschlag in einer *Einstufung dieser Stoffe durch den Gesetzgeber* gefunden. Diese Gruppierung wird laufend ergänzt bzw. geändert. Die folgende Übersicht gibt *vereinfachend* den Inhalt der „Zweiten Verordnung zur Änderung und Ergänzung der Anlage I der Pol.-V.O. über den Verkehr mit giftigen Pflanzenschutzmitteln" vom 15. 8. 1956 wieder. Die einzelnen Abteilungen entsprechen hinsichtlich Aufmachung, Lagerung, Abgabe denen der Pol.-V.O. über den Handel mit Giften. Manche Stoffe unterliegen gleichzeitig den Vorschriften über die Schädlingsbekämpfung mit hochgiftigen Stoffen, die hier keine Berücksichtigung finden können. F. P. = Fertig-Kleinpackung mit warnendem Hinweis (und gegebenenfalls Anfärbung des Wirkstoffes)

Wirkstoffe u. -verbindungen, Handelsformulierungen:	Abteilung 1	Abteilung 2	Abteilung 3	nicht unterstellt
I. Verschiedene Insekticide und Fungicide Alphanaphthylthioharnstoff		mit mehr als 30%	bis maximal 30%	
Arsenverbindungen	alle			
Bariumverbindungen . . .			alle	
Cumarinverbindungen. . .			mit mehr als 1%	bis maximal 1% (F.P.)
Dichlorbenzoldiazothioharnstoff (z. B. Promurit)	mit mehr als 1%			bis maximal 1% (F.P).
Fluorverbindungen (anorg.)		alle		
Giftgetreide (Strychnin, Pyrimidin)	mit mehr als 0,5% Wirkst.	bis maximal 0,5% Wirkst.		
Kresole			mit mehr als 1%	bis maximal 1%
Meerzwiebelpräparate . . .			alle	
Metaldehyd			mit mehr als 10%	bis maximal 10% (F. P.)
Nicotin u. Verbindungen .	mit mehr als 4%			bis maximal 4% N. (F. P.)
Nitroalkylphenole und Verbindungen		alle		
Paradichlorbenzol				alle
Phenol			mit mehr als 3%	m. maximal 3%
(Obstbaumkarbolineum usw.)			mit mehr als 10%	m. maximal 10%

Tabelle 1 (Fortsetzung)

Wirkstoffe u. -Verbindungen, Handelsformulierungen	Abteilung 1	Abteilung 2	Abteilung 3	nicht unterstellt
PH_3 entwickelnde Verbindungen (Phosphide) . .	mit mehr als 7% Phosphide	bis maximal 7% Phosphide		
Schwefelkohlenstoff . . .			alle Präparate	
Tabakextrakte	mit mehr als 10% Nicotin		bis maximal 10% Nicotin	
Quecksilberverbindungen .	alle Präparate			
II. Insekticide chlorierte Kohlenwasserstoffe				
Aldrin		mit mehr als 30%	bis maximal 30%	3%ige Streumittel
Chlordan (Oktachlor) . . .			mit mehr als 1%	mit maximal 1% (a) b) bis max. 10% (F. P.)
DDT, DDD, DFDT . . .			„	„
Dieldrin		mit mehr als 30%	bis maximal 30%	3%ige Streumittel
Endrin	mehr als 20%	bis maximal 20%		
Hexachlorcyclohexan (Lindan)			mit mehr als 1%	mit maximal 1% (a) b) bis max. 10% (F. P.)
Heptachlor		mit mehr als 30%	bis maximal 30%	3%ige Streumittel
Isodrin	mehr als 20%	bis maximal 20%		
Methoxychlor			mit mehr als 1%	m. maximal 1% (a) b) bis max. 10% (F. P.)
Toxaphen (chloriert. Camphen)		mit mehr als 30%	bis maximal 30%	3%ige Streumitte

Tabelle 1 (Fortsetzung)

Wirkstoffe u. -Verbindungen, Handelsformulierungen	Abteilung 1	Abteilung 2	Abteilung 3	nicht unterstellt
III. Insekticide organische Phosphor-, Phosphon-, Tiophosphorsäure-Verbindungen				
Chlorthion		mit mehr als 50%	bis maximal 50%	
Diazinon		mit mehr als 30%	bis maximal 30%	
Dipterex		mit mehr als 50%	bis maximal 50%	
„E 605" (Parathion) . . .	mit mehr als 10%	bis maximal 10%	bis maximal 5% als St.-, Spritzpulv.	
Malathion		mit mehr als 50%	bis maximal 50%	
Metasystox	mit mehr als 50%		bis maximal 50%	
Pestox, OMPA	alle Zubereit.			
Potasan	mit mehr als 10%	bis maximal 10%	bis maximal 5% als St.-, Spritz-pulver	
Systox (Äthyl-)	alle Zubereit.			

diese Befunde konnten von anderen Autoren wie Askew u. Mitarb., Kewitz, Nachmansohn und in Deutschland zuletzt von Erdmann u. Schmidt bestätigt werden*. Als besonders wirksam hat sich bei der Alkylphosphatvergiftung im Tierversuch das 2-Pyridin-aldoxim-methjodid oder „PAM", auch in Kombination mit Atropin, erwiesen, trotzdem es die Blutliquorschranke nur schwer zu durchdringen und die Cholinesterase im Gehirn kaum zu reaktivieren scheint. Daher bieten diese, die Cholinesterase reaktivierenden Stoffe die Möglichkeit, Aussagen über die Angriffspunkte und Mechanismen der Alkylphosphate im Nervensystem und die letzlich zum Tode führenden Wirkungsmechanismen zu machen (Kewitz [123]).

Der Japaner Tatsuji Namba[151] hat vor kurzem erstmalig über die erfolgreiche Behandlung von 2 leichten und 4 mittelschweren Parathionvergiftungen beim Menschen berichtet, in denen 0,1—1 g PAM, i. v. injiziert, ohne wesentliche Störungen des Allgemeinbefindens vertragen

* 6, 9, 69, 72a, 91, 119, 123, 182, 185, 186.

Tabelle 2

Übersicht über die bei den wichtigsten Schädlingsbekämpfungsmitteln festgestellten oralen Toxicitätswerte und die bei 8stündiger Arbeitszeit maximal zulässigen Konzentrationen („MAK-Werte") dieser Stoffe gemäß US Conference of Governm. Industr. Hygien. vom 22. April 1956. T. V. = Zur Diskussion gestellte Werte (Tentative Values)

Stoffe	orale LD_{50} a. d. Ratte	„MAK-Wert" mg/m_3 Luft
I. Feste u. flüss. Schädlingsbekämpfungsmittel		
Aldrin	50—80	0,25
ANTU (Alphanaphthylharnstoff)	6—7/150—200	0,3 T.V.
Bleiarsenat	100	0,15 T.V.
Calciumarsenat	20	0,1 T.V.
Chlordan (rein—techn.)	250—750	2,0
Crag Herbicide 1 (Natr. dichlorphenoxyäthylsulfat)	1400	15
Cyanide (Kalium)	10—15	5 (CN)
Diazinon	190—250	—
DDT	250	1 T.V
Dieldrin	80—90	0,25
DNC (Dinitro-o-Cresol)	26—45	0,2
EPN (Äthyl-p-nitrophenylthiobenzolphosphonat)	33—45 (m) 9—15 (w)	0,5
Ferbam (Ferri-dimethyl-dithiocarbamat)	4000	15 T.V.
HETP (Hexaäthyltetraphosphat)	2	0,1 T.V.
Lindan	125	0,5
Malathion	1300—1700	15
Methoxychlor	6000	15
Natrium fluoracetat (1080)	0,25	0,1
Natriumfluorid	75—150	2,5
Parathion (E 605)	6,5—15	0,1
Pentachlorphenol	78	0,5
Pyrethrum	200	2,0 T.V.
Rotenon	132	5,0 T.V.
Strychnin	16	0,15 T.V.
TEDP (Tetraäthyl-dithiopyrophosphat) „ASP 47"	5	0,2
TEPP (Tetraäthylpyrophosphat)	1,0—1,2	0,05
Thalliumverbindungen (löslich)	25—30	0,15 T.V.
Thiram (Tetramethylthiuramdisulfid)	865	5 T.V.
Toxaphen (chlor. Camphen) 60%	70—120	0,5 T.V.
Quecksilber (organ.)	30	0,01
Warfarin (3-[α-acetonylbenzyl]-4-hydroxycumarin)	5—10	0,5 T.V.
II. Gasförmige Mittel	„MAK-Wert" ppm (= 1 Teil Gas/1 Mill. T. Luft)	
Äthylenoxyd		100
Blausäure		10
Chlorpikrin		1 T.V.
Methylbromid		20
Phosphorwasserstoff		0,05

wurde und durch die rasche Reaktivierung der blockierten Cholinesterase zu einem kurzfristig einsetzenden Rückgang der Vergiftungserscheinungen führte. Somit ist der, wie es scheint gangbare Weg zu einer kausalen Therapie der schweren Alkylphosphatvergiftung beim Menschen gebahnt.

6. Während uns bei der Alkylphosphatvergiftung in der Bestimmung der ChE-Aktivität eine objektive Nachweismethode für den Grad der Vergiftung zur Verfügung steht (Methode nach Ammon bzw. Routinemethoden), besteht diese Möglichkeit bei den meisten anderen SBM-Vergiftungen, z. B. bei den insekticiden chlorierten Kohlenwasserstoffen vom DDT-, HCH- oder Dien-Typus nicht. Wir halten den von Ball u. Kay[13] angegebenen Nachweis der Erhöhung des Serumesterasespiegels bei Aldrin- und Dieldrin-Vergiftung für eine einwandfreie Frühdiagnose nicht für ausreichend. Die verschiedenen Leber- und Nierenfunktionsprüfungen und Harnuntersuchungen ergeben nach unseren tierexperimentellen Erfahrungen erst bei weit fortgeschrittener Parenchymschädigung eindeutige Befunde. Hier müßte ein praktisch durchführbarer Test erarbeitet werden, um auch bei diesen wichtigen SBM eine frühzeitige Diagnose beginnender Schädigung zu ermöglichen.

B. Die im Komplex „Schutz des Konsumenten vor der Wirkung von Schädlingsbekämpfungsmittel-Rückständen auf Nahrungsmitteln"

enthaltenen Probleme sind ungleich schwerer zu lösen, als die eben skizzierten gewerbetoxikologischen Fragen[65a]. Hier handelt es sich um

1. die Ermittlung der SBM-Rückstände auf den Nahrungsmitteln des Marktes,

2. die Prüfung der chronischen einschließlich der geschwulsterzeugenden Wirkungen von praktisch in Frage kommenden, kleinsten SBM-Rückstandsmengen im Tierversuch,

3. die Beurteilung der Wirkungen und Gefahren dieser Rückstände auf Nahrungsmitteln für den Konsumenten,

4. die Erarbeitung von Toleranzwerten, d. h. die Festsetzung duldbarer Rückstandsmengen auf Nahrungsmitteln. Diese Toleranzwertlisten dienen den überwachenden Behörden zur Kontrolle.

Ad 1. Die in den letzten 5—10 Jahren, vor allem in den USA für die wichtigsten SBM-Gruppen entwickelten mikrochemischen und infrarot-

Bemerkung zu Tab. 2. Eine *tabellarische* Übersicht über *vergleichbare* Toxicitätswerte dieser Stoffe bei *perkutaner Applikation* und *Inhalation* läßt sich in obiger Weise nicht geben, da die schon geprüften Stoffe a) teils unverdünnt, teils in ganz verschiedenen Lösungsformen und -mitteln, b) an verschiedenen Tierarten, c) mit verschiedener Methodik untersucht worden sind. Außerdem liegen bei einer ganzen Anzahl von Schädlingsbekämpfungsmitteln keine diesbezüglichen Angaben vor.

spektrographischen Nachweismethoden haben es ermöglicht, die bei verschiedensten Dosierungen, Wartezeiten zwischen letzter Behandlung und Ernte sowie bei wechselnden atmosphärischen Bedingungen auf den pflanzlichen Nahrungs- und Futtermitteln verbleibenden SBM-Rückstände der praktisch wichtigsten Stoffe analytisch zu bestimmen. Wie Casida, S. Dormal, Fukuto, Gunther, Heath, Metcalf, Reith, Mühlmann, Tietz, Van Genderen u. Mitarb.* zeigen konnten, hängen die Rückstandswerte von der Dosierung und der Persistenz der Mittel, vom Zeitpunkt ihrer Anwendung, von den atmosphärischen Bedingungen, vom Zustand der Pflanzenoberfläche, d. h. ihrer Glätte oder Rauhigkeit und ihrem Wachs- und Ölgehalt ab. Vor allem Dormal und Gunther weisen darauf hin, daß bei richtiger Anwendung der SBM und Einhaltung der Karenzzeit die Rückstände auf Früchten und Gemüsen sich in einer Größenordnung bewegen, die unterhalb der zur Zeit als gesundheitlich unbedenklich angesehenen Werte der Toleranzlisten liegt. Bei falscher Anwendung, bei Früchten mit einer starken Wachsschicht, einem hohen Gehalt der Schale an ätherischen Ölen (Citrusfrüchte) oder hohem Ölgehalt (Oliven) finden sich jedoch wesentlich höhere SBM-Mengen über längere Zeit nach der Ernte[1].

Zwecks Nachweis von Insekticidrückständen auf dem Obst des deutschen Marktes wurde von der Biologischen Bundesanstalt Braunschweig, der Bundesanstalt für Qualitätsforschung pflanzlicher Erzeugnisse in Geisenheim und dem Pharmakologischen Institut Bonn eine einfache Extraktions- und Testmethode (Drosophilatest) entwickelt, die zur Zeit von Nahrungsmitteluntersuchungsämtern verwendet wird. Nach privaten Mitteilungen ergaben Untersuchungen durch die Nahrungsmitteluntersuchungsanstalten in Hamburg und Bremen, daß im April 1957 unter 41 Apfel- und Birn-Proben des Marktes 1 (eine), im Januar-Februar 1957 unter 55 Proben 7, d. h. 2,4 bzw. 12,7% Insektizidrückstände aufwiesen.

Neuerdings wurde von Alessandrini[1] eine Methode zur quantitativen Entfernung des Parathions aus Oliven angegeben, durch die Geschmack, Aussehen und Qualität des Olivenöls nicht beeinflußt werden soll.

Man sieht heute die Lösung des Rückstandsproblems in folgenden Aufgaben:

a) Ersatz persistenter Schädlingsbekämpfungsmittel durch weniger haltbare,

b) Hebung der Disziplin beim Anwender von SBM im Sinne strikter Einhaltung der Vorschriften hinsichtlich der Konzentrationen und der Karenzzeiten,

c) Verstärkte Kontrolle der Nahrungsmittel durch die zuständigen Behörden, die nur auf übernationaler Ebene möglich ist.

* 36–38, 58, 79, 80, 82, 89, 90, 102, 148, 163.

Ad 2. Speicherung und Abbau der insekticiden chlorierten Kohlenwasserstoffe konnten ebenso wie die Umsetzungen der Alkylphosphate, vor allem der interessanten Thiophosphorsäureester, im Warmblüterorganismus verfolgt werden. Die Arbeiten von METCALF u. Mitarb., HEATH u. Mitarb., MÜHLMANN u. TIETZ legten den oxydativen Abbau der Thiophosphorsäureverbindungen über Sulfoxyde und Sulfone in der Pflanze fest. SCHRADER u. Mitarb. wiesen auf die Konvertierung gewisser Thiophosphorsäureverbindungen von der Thiono-Form zur Thiol-Form unter gleichzeitigem Anstieg der Toxicität hin. Der intermediäre Abbau einiger Dithiocarbamate zu CS_2 wurde nachgewiesen[116].

Die Speicherung der insekticiden chlorierten Kohlenwasserstoffe und organischer Fungicide im Warmblüterorganismus wurde untersucht, der Übergang erstgenannter Gruppe von den Futtermitteln in das Nutztier und Nahrungsmittel tierischer Herkunft (Fett, Milch, Eier) in zahlreichen Fällen quantitativ verfolgt. Diese seit Jahren von zahlreichen Autoren durchgeführten chronischen Fütterungsversuche an Laboratoriums- und Nutztieren mit kleinen, konstant zugeführten Mengen von Schädlingsbekämpfungsmitteln haben wertvolle Erkenntnisse über die bei den einzelnen Stoffen verschiedenen unteren Speicherungsgrenzen und die minimalen schädigenden Mengen der einzelnen SBM gebracht*.

Bei einer Reihe von Stoffen, so vor allem bei manchen Fungiciden, stehen derartige Untersuchungen noch aus. Es besteht kein Zweifel, daß gerade auf diesem Gebiete eine befriedigende Klärung der Fragen nur durch Zusammenarbeit zwischen dem Toxikologen und dem physiologischen Chemiker möglich ist. Ein schönes Beispiel dafür bieten unter anderem die Arbeiten von HODGE, MAYNARD, DOWNS, COYE u. STEDMAN und von SMITH, FINNEGAN u. LARSSON[116,172] über die Toxikologie von Dithiocarbamaten bei chronischer Fütterung an Hunde und Ratten. So konnte gezeigt werden, daß die untere Speichergrenze von Ziram und Ferbam oberhalb 250 ppm, die untere Grenze toxischer Wirkung bei 500 ppm liegt; außerdem scheinen diese Stoffe keine carcinogene Wirkung bei oraler Applikation zu besitzen.

Eine auf Grund der chemischen Struktur oder gewisser Beobachtungen im Experiment notwendig werdende langfristige Untersuchung eines Stoffes auf eine eventuelle carcinogene Wirkung sollte aus Sicherheitsgründen mit mehreren Applikationsarten und an verschiedenen Tierarten gemäß den Richtlinien von Bad Godesberg (1955) und Wageningen (1956) durchgeführt werden. Die dabei als geschwulstbildend erkannten Stoffe sollten, wenn irgend möglich, nicht mehr in der Schädlingsbekämpfung verwendet, ihre Rückstände auf Nahrungsmitteln nicht mehr geduldet werden. Eine kürzlich erschienene Arbeit von ROTH[164] über den Arsenkrebs der Winzer zwingt zu diesem Schluß. Untersuchungen von insekticiden

* 33, 39, 49, 59, 74–76, 97, 98, 124, 134–138, 145, 156, 157, 175, 189.

chlorierten Kohlenwasserstoffen und Chlor-phenoxyessigsäureverbindungen auf eine geschwulstbildende Wirkung sind unter anderem am Pharmakologischen Institut Bonn im Gange.

Ad 3. Die Übertragbarkeit der Ergebnisse des Tierexperiments auf den Menschen ist umstritten, sie wird zum Teil abgelehnt. In Wirklichkeit hängt die Schlußfolgerung, die wir aus den Tierversuchen ziehen, davon ab, welche Garantieforderung wir verlangen. Jedem naturwissenschaftlich Denkenden ist klar, daß es einen „absolut unschädlichen Stoff" nicht gibt. Wir können daher nur die Feststellung der *gesundheitlichen Unbedenklichkeit eines Stoffes unter definierten Bedingungen treffen.* Hierzu ist das Tierexperiment, richtig angesetzt und vorsichtig gedeutet, immer noch unser wertvollstes Mittel. Die Unbedenklichkeit einer bestimmten Residualmenge eines Schädlingsbekämpfungsmittels für den Konsumenten läßt sich aus chronischen Tierversuchen ableiten, wenn diese Versuche mit dem Mehrfachen der in Frage kommenden Restmengen durchgeführt werden und außerdem ein genügender Sicherheitsfaktor bei der Aufstellung des Toleranzwertes eingebaut wird. Der Sicherheitsfaktor ist die Beziehung zwischen der maximalen, im chronischen Tierversuch nicht mehr toxischen Menge eines Stoffes und der täglich vom Menschen aufgenommenen duldbaren Rückstandsmenge*. Bei seiner Errechnung spielt natürlich die täglich aufgenommene Menge des betreffenden Nahrungsmittels eine wichtige Rolle. Auch besteht ein Unterschied, ob man die Menge SBM auf das Körpergewicht des Konsumenten, auf das Trockengewicht des Nahrungsmittels oder auf die tägliche Calorienzufuhr bezieht, wie dies vorgeschlagen wurde.

Ad 4. Auf diesen Vorstellungen basierend, hat man in den USA, später in den westeuropäischen Ländern Listen mit Toleranzwerten aufgestellt[152a] und neuerdings auch in Westdeutschland eine derartige Liste diskutiert (Tab. 3). Diese Werte sind, ähnlich den Zahlen der sogenannten MAK-Liste, als stets revidierbare Richtzahlen gedacht, die bei den notwendigen Kontrollen der Nahrungsmittel zugrundegelegt werden sollen. Zahlreiche Toxikologen und Ernährungshygieniker plädieren dafür, daß die Haupt- oder Grundnahrungsmittel wie Milch, Fette, Fleisch, Mehl und Brot von allen Fremdstoffen, also auch von Schädlingsbekämpfungsmitteln wenn irgend möglich freigehalten werden sollen, während auf den Zusatznahrungsmitteln wie Früchten und Gemüsen gewisse, als gesundheitlich unbedenklich angesehene Residualmengen zu dulden sind. Die Freihaltung der Grundnahrungsmittel, vor allem der Getreideprodukte, von Schädlingsbekämpfungsmitteln, würde durch den Wegfall der chemisch stabilen Einstäubemittel für lagerndes Getreide und ihren Ersatz durch Pyrethrum-Piperonylbutoxyd bzw. durch gasförmige Vorratsschutzmittel wie Äthylenoxyd, Methylbromid und Phosphorwasserstoff

* 22, 22a, 81, 82, 163b.

Tabelle 3

Übersicht über die z. Zt. diskutierten bzw. geltenden Werte der wichtigsten Insecticid- und Fungicid-Rückstände, die auf pflanzlichen Nahrungsmitteln geduldet werden. Für sogenannte Grundnahrungsmittel gelten andere Bestimmungen a) *Commission der Westeuropäischen Union 1955* (WEU-Liste). b) *US Federal Register 1955* („*Miller Bill*") einschließlich der seither erfolgten Nachträge und Änderungen. Differenzierung der Toleranzwerte nach Art der Nahrungsmittel. Alle Werte in ppm = mg Wirkstoff/kg Nahrungsmittel. c) Eine *Deutsche Vorschlagsliste* wird z. Zt. ausgearbeitet

Stoffe	WEU-Liste	US-Liste
I. Bisher keine Toleranzgrenzen		
Kupferverbindungen		
Allethrin, Piperonylbutoxyd, Pyrethrum		
Rotenon, Ryania, Sabadilla		
II. Toleranzwerte		
Aldrin	0,1	0, 0,1 0,25, 0,75
Bleiarsenat (/Pb)		1,0—7,0
Calciumarsenat (/As_2O_3)	3,5	3,5
Chlordan	0,1	0—0,3
DDT	5,0	7,0
Diazinon	1,0	.
Dieldrin	0,1	0, 0,1—0,75
2,4-D (2,4-Dichlorphenoxyessigsäure)	5,0	5,0
Endrin	0	0
Ferbam (Ferri-dimethyldithiocarbamat)	7,0	7,0
Fluorverbindungen (Cryolite)	7,0	7,0
Lindan	2,5	2,5/10,0
Malathion	1,0	8,0
Methoxychlor	14,0	2, 3, 14, 100
Natriumarsenat (/As_2O_3)	3,5	3,5
Nicotin und N.-Verbindungen	2,0	2,0
Parathion	1,0	1,0
Piperonylbutoxyd (Getreide)	20,0	20,0
Pyrethrine (Getreide)	3,0	3,0
Systox oder Demeton	0	0,3—0,75—1,25—5,0
Toxaphen (chloriertes Camphen)	7,0	7,0
Zineb (Zinkäthylenbisdithiocarbamat)	7,0	7,0
Ziram (Zinkdimethyldithiocarbamat)	7,0	7,0
III. Keinerlei Rückstände erlaubt		
Calciumcyanid		
Dinoseb (2-[1-methyl-n-propyl]-4:6-dinitrophenol)		
DNC (Dinitro-o-cresol)		
Blausäure abspaltende Verbindungen		
HETP (Hexaäthyltetraphosphat)		
Quecksilber-Verbindungen		
Selenverbindungen		
TEPP (Tetraäthylpyrophosphat)		

technisch erreicht werden können, zumal einige dieser Gase nach neueren Untersuchungen keinen nachteiligen Einfluß auf die Zusammensetzung der Nahrungsinhaltsstoffe auszuüben scheinen[187].

Der Unterscheidung in Haupt- und Zusatznahrungsmittel steht entgegen, daß Obst und Gemüse und ihre Produkte im Alltag des Haushaltes und der Klinik heute weitgehend als Hauptnahrungsmittel dienen.

Zusammenfassung

Auf dem Gebiete der Toxikologie der Schädlingsbekämpfungsmittel konnten in den letzten Jahren zahlreiche und wichtige Fragen analytischer und pharmakologischer Art, soweit es sich um die akute Wirkung der betreffenden Stoffe handelte, bearbeitet und auch geklärt werden.

Auf dem Gebiete der chronischen Wirkung, der Speicherbarkeit, der carcinogenen Wirkung einiger Schädlingsbekämpfungsmittel und ihrer Zusatzstoffe sind manche Lücken zu schließen. Die einzige Möglichkeit dies zu erreichen, sehen wir in experimenteller Arbeit in Koordination mit dem Analytiker und dem physiologischen Chemiker.

Literatur

[1] Alessandrini, M. E.: „Insekticidrückstände im Olivenöl", Vortrag auf dem III. Internationalen Symposion „Chemische Fremdstoffe in Nahrungsmitteln", Como, Mai 1957. — [2] Alvarez, W. C., and S. Hyman: Arch. of Industr. Hyg. **8**, 480 (1953). — [3] Amann, E., and H. Kost: Canad. J. Med. Sci. **31**, 146 (1953). — [4] Amann, E.: Physiologic. Rev. **32**, 178 (1954). — [5] Ambrose, A. M., H. E. Christensen, D. J. Robbins and L. J. Rather: Arch. of Industr. Hyg. **7**, 197 (1953). — [6] Askew, B. H., D. R. Davies, A. L. Green and R. Holmes: Brit. J. Pharmacol. **11**, 424 (1956). — [7] Asperen, K. van: Arch. internat. Pharmacodynamie **99**, 368 (1954). — [8] Asperen, K. van, and F. J. Oppenoorth: Nature (Lond.) **173**, 1000 (1954). — [9] Augustinson, K. B., u. M. Grahn: Acta chem. scand. (Copenh.) **6**, 1477 (1952). — [10] Augustinson, K. B.: Acta pharmacol. (Copenh.) **9**, 245 (1953). — [11] Bagdon, R. E., et K. P. du Bois: Arch. internat. Pharmacodynamie **108**, 27 (1956). — [12] Ball, W. L., K. Kay and J. W. Sinclair: Arch. of Industr. Hyg. **7**, 292 (1953). — [13] Ball, W. L., and K. Kay: Arch. Ind. Health **14**, 319 (1956). — [14] Bann, J. M., Th. J. de Cino and N. W. Earle: J. agric. Food Chem. **4**, 937 (1956). — [15] Barnes, J. M., and F. A. Denz: J. of Hyg. **49**, 430 (1951). — [16] Barnes, J. M., and D. R. Davies: Brit. Med. J. **1951**, 816. — [17] Barnes, J. M., and D. R. Davies: Brit. Med. J. **1951**, 4735. — [18] Barnes, J. M.: WHO Monography Series **16**, 1 ff (1953). — [19] Barnes, J. M., W. J. Hayes jr. and K. Kay: WHO Report Nr. 29 (1954). — [20] Barnes, J M.: Chem. a. Ind. **1954**, 478 und 620. — [21] Barnes, J. M., and F. A. Denz: Brit. J. Industr. Med. **11**, 11 (1954). — [22] Barnes, J. M., and F. A. Denz: Pharmacologic. Rev. **6**, 191 (1954). — [22a] Barnes, J. M.: Voeding **16**, 658 (1955). — [23] Batchelor, G. S., and K. C. Walker: Arch. Ind. Health **10**, 522 (1954). — [24] Baumgartner, O.: Schweiz. med. Wschr. **1953**, 1093. — [25] Berim, N. G.: Ann. Appl. Biol. **38**, 555 (1951). — [26] Bidstrup, P. L.: Brit. Med. J. **1951**, 628. — [27] Bidstrup, P. L.: Lancet **1952**, 794. — [28] Bidstrup, P. L., and D. H. J. Payne: Brit. Med. J. **1951**, 4722. — [29] Bidstrup, P. L., and J. A. Bonnell: Chem. a. Ind. **24**, 674 (1954). — [30] Biro, V., W. Voegtlin u. P. Läuger: Helvet. chim. Acta **37**, 2230 (1954). — [31] Breinlich, J.: Arch. Toxikol. **16**, 28 (1956). — [32] Brown, H. V., and A. F. Bush: Arch. of

Industr. Hyg. **1**, 633 (1950). — [33] Bundren, J., D. E. Howell and V. B. Heller: Proc. Soc. Exper. Biol. a. Med. **79**, 236 (1952). — [34] Burn, J. H., and J. M. Walker, J. of Physiol. **173**, 163 (1954). — [34a] Buxton, P. A.: Symposium on Insecticides: Trans. Roy. Soc. Trop. Acad. (Lond.) **46**, 213 (1952). — [35] Callaway, S., D. R. Davies and J. P. Rutland: Brit. Med. J. **1951**, 812. — [36] Casida, J. E., R. K. Chapman, M. A. Stahman and T. C. Allen: J. Econ. Entomol. **47**, 64 (1954). — [37] Casida, J. E., T. C. Allen and M. A. Stahman: J. of Biol. a. Chem. **210**, 607 (1954). — [38] Casida, J. E.: J. agric. Food Chem. **4**, 772 (1956). — [39] Claborn, H. V., J. W. Bowers, R. W. Wells, R. D. Radeleff and W. J. Nickerson: Agricult. Chem. **8**, 27 (1953). — [40] Coleman, A. L., W. L. Ball, H. E. Stokinger, W. H. Reinhart, A. J. Vorwald, L. T. Fairhall, R. S. Smith and S. D. Silver: Arch. Ind. Health **14**, 186 (1956). — [41] Cook, J. W.: J. Assoc. Off. agricult. Chemists **37**, 989 (1954). — [42] Coper, H., H. Herken u. J. Klempau: Naturwissenschaften **38**, 69 (1951). — [43] Coper, H., H. Herken, L. Rosenkötter u. H. Selbach: Klin. Wschr. **1952**, 551. — [44] Coper, H., H. Herken u. W. Koransky: Naturwissenschaften **41**, 531 (1954). — [45] Corti, A. L.: Rev. farmac. (Buen. Aires) **95**, 157 (1953). — [46] Crevier, M., W. L. Ball and K. Kay: J. Industr. Hyg. a. Toxicol. **9**, 306 (1954). — [47] Culver, D., P. Caplan and G. Batchelor: Arch. Ind. Health **13**, 37 (1956). — [48] Dadey, J. L., and A. G. Kammer: J. Amer. Med. Assoc. **153**, 723 (1953). — [49] Davidow, B., and J. P. Frawley: Proc. Soc. Exper. Biol. a. Med. **76**, 780 (1951). — [50] Davidow, B., J. L. Radomski and R. Ely: Science (Lancaster, Pa.) **118**, 383 (1953). — [51] Davies, D. R., and J. D. Nicholls: Brit. Med. J. **1955**, 1373. — [52] Davison, A. N.: Biochemic. J. **60**, 339 (1955). — [53] Davison, A. N.: Biochemic. J. **61**, 203 (1955). — [54] Deichmann, W. B., W. Pugliese and J. Cassidy: Arch. Industr. Hyg. **5**, 44 (1952). — [55] Domenjoz, R.: Schweiz. med. Wschr. **1944**, 952. — [56] Domenjoz, R.: Helvet. chim. Acta **29**, 1317 (1946). — [57] Domenjoz, R.: Erg. Hyg. **26**, 1—138 (1949). — [58] Dormal, S.: a) Parasitica X, 60 (1954); b) Parasitica XI, 58 (1955); c) Vortrag auf dem III. Intern. Symposion „Chem. Fremdstoffe in Nahrungsmitteln", Como, Mai 1957. — [59] Draize, J. H., G. Woodard, A. A. Nelson, M. J. Smith and H. O. Calvery: Chem. Engin. News. **22**, 1503 (1947). — [60] Du Bois, K. P., J. Doull, P. R. Salerno and J. M. Coon: J. Pharmacol. a. Exper. Ther. **95**, 79 (1949); **99**, 376 (1950); **107**, 464 (1953). — [61] Du Bois, K. P., J. Doull, J. Deroin and O. K. Cummings: Arch. Industr. Hyg. **8**, 350 (1953). — [62] Du Bois, K. P., and G. J. Cotter: Arch. Ind. Health **11**, 53 (1955). — [63] Du Bois, K. P., Sh. D. Murphy and D. R. Thursh: Arch. Ind. Health. **13**, 606 (1956). — [64] Duensing, F., u. W. D. Erdmann: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **223**, 506 (1954). — [65] Durham, W. F., Th. B. Gaines, R. A. McCauley, V. A. Sedlak, A. M. Mattson and W. J. Hayes jr.: Arch. Ind. Health **13**, 326 (1956); **15**, 340 (1957). — [65a] Eichholtz, F.: Die toxische Gesamtsituation auf dem Gebiete der menschlichen Ernährung. Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer 1956. — [66] Eickstedt, K. W. von, W. D. Erdmann u. K. P. Schaefer: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **226**, 435 (1955). — [67] Ekwall, P., u. K. Setälä: Acta path. scand. (Copenh.) **91**, 66 (1951). — [67a] Ekwall, P., K. Setälä u. L. S. Sjöblom: Acta chem. scand. (Copenh.) **5**, 175 (1951). — [68] Enders, A.: Arch. internat. Pharmacodynamic **89**, 169 (1952). — [68a] Enders, A., et H. Ruf: Arch. internat. Pharmacodynamic **90**, 175 (1952). — [69] Epstein, M. A., G. Freeman, L. D'Agrosa and L. Dultz: Proc. Soc. Exper. Biol. a. Med. **92**, 660 (1956). — [70] Erdmann, W. D., u. K. P. Schaefer: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **223**, 519 (1954). — [71] Erdmann, W. D., H. D. Kempe u. W. Lühning: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **225**, 359 (1955). — [72] Erdmann, W. D., u. L. Lendle: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **230**, 208 (1957). — [72a] Erdmann, W. D., u. G. Schmidt:

Referat auf der 23. Tagung d. Dtsch. Pharmakol. Ges. Freiburg 1957. — [73] Fabre, R.: Ann. pharmac. franc. **11**, 450 (1953). — [74] Fitzhugh, O. G., and A. A. Nelson: J. of Pharmacol. **89**, 18 (1947). — [75] Fitzhugh, O. G.: Industr. Engin. Chem. **40**, 704 (1948). — [76] Fitzhugh, O. G., A. A. Nelson and J. P. Frawley: J. of Pharmacol. **100**, 59 (1950). — [77] Fleisher, J. H., and E. J. Pope: Arch. of Industr. Hyg. **9**, 323 (1954). — [78] Fryer, J. H., and H. H. Williams: J. Ind. Health **14**, 132 (1956). — [79] Fukuto, T. R., R. L. Metcalf, R. B. March and M. G. Maxon: J. Econ. Entomol. **48**, 347 (1955). — [80] Fukuto, T. R., R. L. Metcalf, R. B. March and M. G. Maxon: J. Amer. Chem. Soc. **77**, 3670 (1955). — [81] Gaddum, J. H.: Pharmacologic. Rev. **5**, 87 (1953). — [82] Genderen, H. van: Voeding **16**, 742 (1955). — [83] Gerebtzoff, M. A., et M. J. Dallemagne: C. r. Soc. Biol. (Paris) **144**, 1570 (1950). — [84] Gerebtzoff, M. A., M. J. Dallemagne et E. Philippot: C. r. Soc. Biol. (Paris) **144**, 457 (1950). — [85] Govaerts, J., M. J. Dallemagne et M. A. Gerebtzoff: Bull. Soc. chim. biol. (Paris) **33**, 1277 (1951). — [86] Gowdey, C. W., A. R. Graham, J. J. Seguin, R. A. Waud and G. W. Stavraky: Canad. J. Med. Sci. **30**, 520 (1952); Canad. J. Biochem. Physiol. **32**, 498 (1954). — [87] Gowdey, C. W., and G. W. Stavraky: Canad. J. Biochem. Physiol. **33**, 272 (1955). — [88] Gunther, F. A., G. E. Carman and R. L. Metcalf: Arch. of Biochem. a. Biophysics **50**, 504 (1954). — [89] Gunther, F. A., and R. C. Blinn: Analysis of Insecticides and Acaricides. Interscience Publ. Inc., New York-London 1955. — [90a] Gunther, F. A.: Ann. Rev. Entomol. **1**, 167 (1956). — [90b] Gunther, F. A.: Vortrag auf dem III. Internat. Symposion „Fremdstoffe in Nahrungsmitteln", Como Mai 1957. — [91] Hackley, B. E., R. E. Papinger, M. A. Stolbert and Th. Wagner-Jauregg: J. Amer. Chem. Soc. **77**, 3651 (1955). — [92] Hagan, E. C.: Federat. Proc. **12**, 327 (1953). — [93] Hagan, E. C., and J.-L. Radomski: J. Amer. Pharmaceut. Assoc., Sci. Ed. **42**, 379 (1953). — [94] Hamm, H., u. U. von Pentz: Ärztl. Wschr. **1954**, 125. — [95] Harris, J. R., G. E. Stoddard, G. Q. Bateman, J. L. Shupe, D. A. Greenwood, L. E. Harris, T. L. Bahler and F. V. Lieberman: J. agric. Food Chem. **4**, 694 (1956) — [96] Harvey, D. G.: J. of Pharmacy a. Pharmacol. **5**, 497 (1953). — [97] Hayes, W. J. jr.: Publ. Health Rep. **1954**, 893; Amer. J. Publ. Health **45**, 478 (1955). — [98] Haymaker, M. W., A. M. Ginzler and R. L. Ferguson: Amer. J. Med. Sci. **1946**, 423. — [99] Hazleton, L. W., and E. G. Holland: Advances in Chem. Soc. **1**, 31 (1950). — Arch. of Industr. Hyg. **8**, 399 (1952). — [100] Hazleton, L. W.: J. agric. Food Chem. **3**, 312 (1955). — [101] Hazleton, L. W., T. W. Tussing, B. R. Zeitlin, R. Thiessen jr. and H. K. Murer: J. Pharmacol. a. Exper. Ther. **118**, 348 (1956). — [102] Heath, D. F., P. O. Park, L. A. Lickerish and E. F. Edson: Pest Control Ltd.-Report 1953. — [103] Hecht, G.: Dtsch. med. Wschr. **1952**, 769. — [104] Hecht, G., u. W. Wirth: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **211**, 264 (1950). — [105] Henglein, A., G. Schrader u. R. Mühlmann: Z. angew. Chem. **141**, 276 (1954). — [106] Henglein, A., u. G. Schrader: Z. Naturforsch. **10b**, 12 (1955). — [107] Herken, H.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **211**, 143 (1950). — [108] Herken, H.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **216**, 162 (1952). — [109] Herken, H.: Arzneimittel-Forsch. **1**, 356 (1951). — [110] Herken, H., H. Kewitz u. J. Klempau: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **215**, 217 (1952). — [111] Herken, H., u. D. Neubert: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **219**, 223 (1953). — [112] Hertel, H.: Dtsch. Arch. klin. Med. **199**, 256 (1952). — [113] Heymans, C.: Arch. internat. Pharmacodynamic **81**, 230 (1950). — [114] Heymans, C., A. Pochet et H. V. Houtte: Arch. internat. Pharmacodynamic **104**, 293 (1956). — [115] Hill, W. R., and C. R. Damiani: New Engin. J. Med. **235**, 897 (1946). — [116] Hodge, H. C., E. A. Maynard, W. L. Downs, R. D. Coye jr. and L. T. Steadman: J. Amer. Pharmaceut. Assoc. **41**, 662 (1952). — J. Pharmacol. a. Exper. Ther. **118**, 174 (1956). — [117] Holz, W., u. B. Lange: Fortschritte in der chemischen Schädlingsbekämpfung, Oldenburg 1955. — [118] Ingle, L.: Vortrag vor der

Ohio Pest Control Assoc., Springfield 1956. — [119] Jacob, J., et G. Michaud: Arch. internat. Pharmacodynamic **106**, 395 (1956). — [120] Johnston, C. T.: Arch. of Biochem. **31**, 375 (1951). — J. Econ. Entomol. **45**, 279 (1952). — [121] Keller, H.: Hoppe-Seylers Z. **295**, 15 (1953). — Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **218**, 121 (1953). — [122] Kempe, H. D.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **223**, 533 (1954). — [123] Kewitz, H.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **216**, 161 (1952). — Kewitz, H., and J. B. Wilson: Arch. of Biochem. a. Biophysics **60**, 261 (1956). — Kewitz, H., J. B. Wilson and D. Nachmansohn: Arch. of Biochem. a. Biophysics **64**, 456 (1956). — Kewitz, H.: Klin. Wschr. **1957**, 521. — [124] Klimmer, O. R.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **227**, 183 (1955). — [125] Klimmer, O. R., u. W. Pfaff: Arzneimittel-Forsch. **5**, 584 (1955). — [126] Klimmer, O. R., u. W. Pfaff: Arzneimittel-Forsch. **5**, 626 (1955). — [127] Klimmer, O. R., u. W. Pfaff: (unveröffentl. Versuche). — [128] Klingmann, H.: Ärztl. Wschr. **1949**, 465. — [129] Klosa, J.: Arch. Pharmazie **287**, 320 (1954). — [130] Klotzsche, K.: Arzneimittel-Forsch. **5**, 436 (1955). — [131] Kodama, J. K., H. H. Anderson, M. K. Dunlap and Ch. H. Hine: Arch. Ind. Health **11**, 487 (1955). — [132] Kotz, G. C., u. J. N. Walop: Biochem. et biophysica Acta (Amsterd.) **13**, 510 (1954). — [133] Kubistova, J.: Experientia (Basel) **12**, 233 (1956). — [134] Laug, E. P.: J. of Pharmacol. **93**, 277 (1948). — [135] Laug, E. P., A. A. Nelson, O. G. Fitzhugh and F. M. Kunze: J. Pharmacol. a. Exper. Ther. **98**, 268 (1950). — [136] Laug, E. P., F. M. Kunze and C. S. Prickett: Arch. of Industr. Hyg. **3**, 245 (1951). — [137] Lehman, A. J.: J. Assoc. FD Off. US **15**, 4 (1951). — [138] Lehman, A. J.: Quart. Bull. Assoc. FD Off. US **15**, 122 (1951); **15**, 235 (1951); **16**, 47 (1952). — [139] Lemmon, G. Br., and W. F. Pierce: J. Amer. Med. Assoc. **1952**, 1314. — [140] Lendle, L., u. H. H. Schneider: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **210**, 119 (1950). — [141] Limperos, G., and K. E. Ravita: Science (Lancaster, Pa.) **117**, 453 (1953). — [142] Lewey, F. H.: J. Industr. Hyg. a. Toxicol. **23**, 415 (1941). — [143] Lockau, S., u. M. Lüdicke: Z. Naturforsch. **7** b, 389 (1952). — [144] March, R. B., R. L. Metcalf, T. R. Fukuto and M. G. Maxon: J. Econ. Entomol. **48**, 355 (1955). — [144] Marchand, J.: J. Amer. Med. Assoc. **149**, 738 (1952). — [145] Mattson, A. M., J. T. Spillane, C. Baker and G. W. Pearce: Analyt. Chem. **25**, 121 (1953). — [146] Metcalf, R. L., and R. B. March: Science (Lancaster, Pa.) **117**, 527 (1953). — J. Econ. Entomol. **46**, 288 (1953). — Ann. Entomol. Soc. Amer. **46**, 53 (1953). — [147] Metcalf, R. L., R. B. March, T. R. Fukuto and M. G. Maxon: J. Econ. Entomol. **47**, 1045 (1954); **48**, 364 (1955). — [148] Mühlmann, R., u. H. Tietz: Höfchen-Briefe **2**, 116 (1956). — [149] Myers, D. K., H. R. Mendel and J. A. Ketelaar: Nature (Lond.) **170**, 805 (1952). — [150] Nachmansohn, D.: Erg. Physiol. **48**, 654 (1956). — [151] Namba, Tatsuji: Bisher unveröffentlicht. — [152] Oettel, H.: Arch. Toxikol. **15**, 42 (1954). — [152] Official FDA-Tolerances Listed, Nation. Agric. Assoc. News **14**, V, 8 (1956). — [153] Ong, E. R. de: Insect, Fungus and Weed Control, New York 1953. — [154] Parker, V. H., J. M. Barnes and F. A. Denz: Brit. J. Ind. Med. **8**, 226 (1951). — [155] Parker, V. H.: Biochemic. J. **57**, 381 (1954). — [156] Patterson, W. J., and A. J. Lehman: J. Assoc. FD Off. US **17**, 1 (1953). — [157] Pearce, G. W., A. M. Mattson and J. W. Hayes: Science (Lancaster, Pa.) **116**, 3010 (1952). — [157a] Pesticides (Colon.) Residues Committee, Pestic. Abstr. a. News Summary **2**, Nr. 1, 2, 3, (1956). — [158] Petersen, S., W. Gauss u. E. Urbschat: Angew. Chem. **67**, 217 (1955). — [159] Pfaff, W.: Z. Pflanzenkrkh. **62**, 236 (1955). — [160] Piekarski, G., u. K. Holz: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **210**, 71 (1950). — [161] Princi, Fr., and G. Spurbeck: Arch. of Industr. Hyg. **3**, 64 (1951). — [162] Radomski, J. L., L. Davidow and R. Ely: J. Pharmacol. a. Exper. Ther. **107**, 266 (1953). — Science (Lancaster, Pa.) **118**, 383 (1953). — [163] Reith, J. F.: Voeding **16**, 832, 867, 932 (1955). — Vortrag auf dem III. Internat. Symposion „Chem. Fremdstoffe in

Nahrungsmitteln", Como Mai 1957. — [164] Roth, F.: Z. Krebsforsch. **61**, 287 (1956); **61**, 468 (1957). — [165] Sacklin, J. A., L. C. Terriere and L. M. F. Rrmmert: Science (Lancaster, Pa.) **122**, 377 (1955). — [166] Saunders, B. C.: The Royal Inst. Chem. Lect., Monographs, Report Nr. 1, London 1953. — [167] Schaefer, K. P.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **226**, 505 (1955). — [168] Schrader, G.: Die Entwicklung neuer Insekticide auf Grundlage organischer Fluor- und Phosphorverbindungen. Weinheim: Verlag Chemie 1952. — [169] Schrader, G.: Angew. Chem. **69**, 86 (1957). — [170] Setälä, H.: Acta path. scand. (Copenh.) **115**, 4 (1956. — [171] Sijpesteijn, A. K., u. Van der Kerk, G. J.: Biochem. et biophysica Acta (Amsterd.) **19**, 280 (1956). — [172] Smith, R. B., J. K. Finnegan, P. S. Larsson, P. F. Salyoun: J. Pharmacol. a. Exper. Ther. **109**, 159 (1953). — [173] Summerford, W. T., W. J. Hayes jr., J. M. Johnston, K. Walker and J. Spillane: Arch. of Industr. Hyg. **7**, 383 (1953). — [174] Symanski, H.: Arch. Gewerbepath. Gew. Hyg. **13**, 573 (1955). — [175] Tauber, O. E., and A. B. Hughes: Proc. Soc. Exper. Biol. a. Med. **75**, 420 (1950). — [176] Teleky, L.: Arch. Gewerbepath. Gew. hyg. **13**, 313 (1954). — [177] Tilgner, S.: Naturwissenschaften **42**, 259 (1955). — [178] Tollenaar, F. D., D. D. A. Mossel and Van H. Genderen: Chem. a. Indust. **1952**, 923. — [179] Treon, J. F., and F. D. Cleveland: J. agric. Food Chem. **3**, 402 (1955). — [180] Truhaut, R., and G. Viel: Bull. Soc. Sci. Hyg. **44**, 103 (1956). — [181] Velbinger, H. H.: Pharmazie **4**, 165 (1949). — [182] Wagner-Jauregg, Th.: Arzneimittel-Forsch. **6**, 194 (1956). — [183] Waldman, R. K., J. Lieben and L. Krause: Arch. of Industr. Hyg. **9**, 37 (1954). — [184] Wilhelmi, G., et R. Domenjoz: Arch. internat. Pharmacodynamic **86**, 321 (1951). — [185] Wilson, J. B., and E. K. Meislich: J. Amer. Chem. Soc. **75**, 4628 (1953). — [186] Wilson, J. B., and S. Ginsburg: Biochem. et biophys. Acta (Amsterd.) **18**, 168 (1955). — Arch. of Biochem. a. Biophysics **54**, 569 (1955). — [187] Winteringham, F. P. W., A. Harrison, R. G. Bridges and P. M. Bridges: J. of Science of Food a. Agricult. **5**, 251—274 (1955). — [188] Wirth, W.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **207**, 545 (1949); **217**, 144 (1953). — [189] Woodard, G., A. A. Nelson and H. O. Calvery: J. Pharmacol. a. Exper. Ther. **82**, 152 (1944). — [190] World Health Organization (Genf), a) Working Paper Nr. 36 (1953), b) Monography Series **16** (1953), c) Report Nr. 29 (1954), d) Techn. Report Ser. Nr. 114 (1956): „Toxic Hazards of Pesticides to Man", e) Report 51 (1957): Bibliography on Pesticide Toxicity and accident. Poisoning (1953—1956). — [191] Zurlo, N., C. Sassi e L. Metrico: Med. Lav. **45**, 533 (1954).

K. Lang (Mainz): Das Problem der Lebensmittelzusätze

Bei der Erzeugung, Verarbeitung, Verpackung und Lagerung von Lebensmitteln wird in steigendem Umfange von nahrungsfremden Substanzen Gebrauch gemacht. Die Zahl der zu diesem Zweck zum Patent angemeldeten Substanzen steigt ständig an. Nach den Erhebungen der Deutschen Forschungsanstalt für Lebensmittelchemie sowie des Deutschen Bundes für Lebensmittelrecht werden gegenwärtig in Deutschland über 100 Substanzen tatsächlich in Lebensmitteln gefunden. In Schweden sind 1953 160 derartige Substanzen als Lebensmittelzusätze zugelassen worden. Allerdings sind bei diesen Aufstellungen die als Fremdsubstanzen bezeichneten Stoffe rein lebensmittelrechtlich definiert. Unter sie fällt daher eine große Zahl von Substanzen, die von dem nicht in der Lebensmittelgesetzgebung Erfahrenen nicht als Fremdstoffe empfunden werden und

die keinerlei toxikologischen Probleme aufwerfen, wie die von jeher viel verwendeten Fruchtsäuren (Äpfelsäure, Citronensäure, Weinsäure) und ihre Natriumsalze und Calciumsalze, Milchsäure und Essigsäure sowie ihre Salze, Alkalisalze, Erdalkalisalze, Phosphorsäure und ihre Salze, Vitamine, Zucker, Sirupe, Eiweißhydrolysate, Glutaminsäure, Pektin u. a. m. Zieht man diese von den in Schweden zugelassenen 160 Substanzen ab, bleiben noch etwa 60 übrig, die man als „unphysiologisch" bezeichnen kann und die die Frage nach der gesundheitlichen Unbedenklichkeit aufwerfen. Von den erwähnten 60 Substanzen entfällt allein rund die Hälfte auf Lebensmittelfarbstoffe.

Hinsichtlich Verwendungszweck kann man diese unphysiologischen, in Lebensmittel anzutreffenden Substanzen folgendermaßen einteilen:

1. Substanzen, die in irgendeiner Weise nachteilige Veränderungen der Lebensmittel verzögern oder verhindern sollen, also Konservierungsmittel. Zu ihnen gehören

a) Substanzen gegen mikrobielle Veränderungen („klassische" Konservierungsmittel),

b) Substanzen gegen chemische Veränderungen (Oxydationsprozesse, Hydrolysen, Veresterungen, Polymerisationsprozesse),

c) Substanzen gegen physikalische Veränderungen, wie Entmischungen (Schutzkolloide, Dickungsmittel, Emulgatoren, Stabilisatoren) oder Kristallisationen,

d) Substanzen gegen Schädlingsbefall,

e) Substanzen gegen anderweitige Veränderungen (z. B. Auskeimen von Kartoffeln, Welken von Gemüse).

Praktisch alle Lebensmittel stammen aus dem Tierreich oder dem Pflanzenreich und waren selber einmal Bestandteile eines lebenden Organismus. Sie sind daher ein außerordentlich kompliziert zusammengesetztes Gemisch einer Unzahl von Substanzen. Sie kommen entweder noch als lebende Gebilde in unsere Hand (etwa Cerealienkörner, Früchte) oder als tote. In dem einen Fall machen sie durch ihren Stoffwechsel Veränderungen durch, verarmen an bestimmten Substanzen und reichern andere durch Biosynthesen oder als Abbauprodukte an. In dem anderen Falle machen sie die mit dem Absterben und der postmortalen Autolyse verbundenen chemischen Prozesse durch. In beiden Fällen kommen dann noch die etwaigen sekundären, durch Infektion mit irgend welchen Mikroorganismen oder durch Schädlingsbefall bedingten Eingriffe in ihre chemische Struktur hinzu, ferner die durch Belichtung, Kontakt mit dem Luftsauerstoff und ähnlichen Einflüssen in Gang gesetzten Reaktionen. Die chemischen Veränderungen ihrerseits bedingen dann Änderungen des physikochemischen Zustandes. Alle Substanzen, welche solche nachteiligen Veränderungen der Lebensmittel verzögern oder verhindern sollen, faßt man heute unter dem Begriff Konservierungsmittel zusammen.

Der Begriff Konservierungsmittel ist also viel weiter gefaßt, als es früher der Fall war.

2. Substanzen, die zu Zwecken der Schönung (Bleichung, Färbung) zugesetzt werden. Zweck der Schönung ist es, das Lebensmittel für den Konsumenten ansprechender zu machen. Im Gegensatz zu der chemischen Konservierung, die von allen Sachverständigen zur Zeit als nicht entbehrlich bezeichnet wird, kann man über die Notwendigkeit der Schönung durchaus geteilter Meinung sein.

3. Substanzen, die der Aromatisierung dienen.

4. Substanzen, die unbeabsichtigt in die Lebensmittel bei der Erzeugung, Verarbeitung oder durch die Verpackung gelangen.

In diesem Referat sollen die durch die Färbung von Lebensmitteln aufgeworfenen Probleme nicht behandelt werden, da hierfür ein eigenes Referat von Hecht vorgesehen ist. Ebenso werden auch die unbeabsichtigt in die Lebensmittel gelangenden Substanzen (Reste von Saatbeizmitteln, Fungicide, Insecticide, Schädlingsbekämpfungsmittel usw.) in anderen Referaten besprochen werden.

Bei der Behandlung von Lebensmitteln mit Hitze oder Strahlen, beim Entzug von Wasser, bei der Verwendung von oberflächenaktiven Substanzen können chemische Umsetzungen in Gang gesetzt werden, die zum Auftreten „unphysiologischer" Substanzen Anlaß geben. Auch dieses Gebiet, das eine Reihe höchst interessanter biochemischer, ernährungsphysiologischer und toxikologischer Fragen aufwirft, soll in dem vorliegenden Referat nicht behandelt werden.

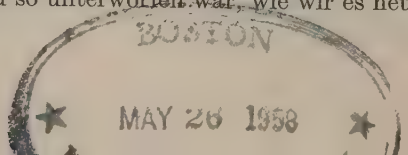
Die Forderung, alle Lebensmittelzusätze schlechthin zu verbieten, ist unerfüllbar. Alle in der neueren Zeit mit dieser Frage in der ganzen Welt befaßten Sachverständigen-Gremien kamen übereinstimmend zu der Überzeugung, daß Lebensmittelzusätze nicht völlig entbehrt werden können. Die Hauptgründe hierfür sind:

1. Die zunehmende Verstädterung und die damit zusammenhängende Notwendigkeit des Antransportes der Lebensmittel aus immer entfernteren Erzeugungsgebieten,

2. die Notwendigkeit der Lagerhaltung zur Sicherung der Volksernährung und auf Grund der wirtschaftlichen Durchflechtung der einzelnen Staaten,

3. der Zwang zur Mehrerzeugung und rationellen Verwertung der der Menschheit zur Verfügung stehenden Lebensmittel, teils aus wirtschaftlichen Gründen, teils wegen der Zwangslage durch die ständig zunehmende Bevölkerungszahl.

Die Kunst, Lebensmittel durch Konservierungsmaßnahmen dauerhaft und haltbar zu machen, ist so alt wie die Menschheit selber. Denn sie entspringt einem Zwang, dem der Mensch in den ältesten, prähistorischen Zeiten genau so unterworfen war, wie wir es heute noch sind. Die Natur



bringt nämlich die Lebensmittel nicht in einem gleichmäßig fließenden Strom hervor, sondern diskontinuierlich. Wir können nur in einem Teil des Jahres ernten. Im anderen Teil des Jahres müssen wir im wesentlichen von den bei der Ernte aufgestapelten Vorräten leben. Die Konservierung von Lebensmitteln war von jeher Existenzfrage der Menschheit. Sie ist es heute mehr denn je.

Die als Lebensmittelzusätze verwendeten oder durch die Verarbeitung bzw. unfreiwillig in die Lebensmittel gelangten Substanzen können sich auf die verschiedenste Art und Weise für den Menschen nachteilig oder sogar schädlich auswirken:

1. Durch eine direkte Verminderung des Nährwertes. Eine solche kann wiederum verschiedene Ursachen haben:

a) durch die in Frage kommende Substanz können essentielle Nahrungsfaktoren zerstört werden. Dies kann z. B. durch die Einwirkung von Oxydationsmitteln geschehen. So ist durch die Behandlung mit den Mehlbehandlungsmitteln, die wie Bromat, Persulfat, ClO_2 usw. Oxydationsmittel sind, eine oxydative Zerstörung der gegen Oxydation empfindliche Vitamine (z. B. Vitamin A, Tokopherol, Ascorbinsäure) sowie der leicht oxydablen essentiellen Aminosäuren oder der Polyensäuren zu befürchten bzw. nachgewiesen worden. Ähnlich wirkt sich eine Verwendung von Hydroperoxyd aus. Auch Äthylenoxyd bewirkt die Zerstörung essentieller Nahrungsbestandteile, z. B. von Thiamin. Bei der Verwendung von ClO_2 ist außerdem noch an die Chlorierung von Polyensäuren zu denken. Durch die Behandlung von Lebensmitteln mit Adsorbentien (z. B. bei der Raffination von Ölen und Fetten) können den Lebensmitteln wichtige Substanzen entzogen werden. Hinzu kommt die Möglichkeit, daß bei dem Kontakt mit stark oberflächenaktiven Adsorbentien noch chemische Umsetzungen stattfinden wie Isomerisierungen von Polyensäuren, etwa in dem Sinne, daß bei den essentiellen Fettsäuren die biologisch ganz andersartig wirkenden konjugierten Säuren entstehen oder daß eine Isomerisierung der physiologischen cis-Formen zu den unphysiologischen trans-Formen stattfindet.

Naturgemäß hängt die Größe des Effektes und damit die Frage der Minderung des Nährwertes in hohem Maße von der Dosierung der betreffenden Substanzen ab.

b) Durch Verminderung der Resorption. Ein bekanntes Beispiel hierfür ist die Resorptionsverschlechterung der fettlöslichen Vitamine durch Gaben der praktisch unresorbierbaren Mineralöle. Weitere Beispiele betreffen die Verschlechterung der Resorption von Mineralstoffen oder Spurenelementen durch Komplexbildner oder durch Bildung unlöslicher und unresorbierbarer Salze. Ein anderer Mechanismus ist die Beeinträchtigung der Resorptionsprozesse durch Verstärkung der Motorik des Magen-Darm-Traktes, etwa bis zu der Erzeugung von Durchfällen.

Eine Verminderung der Ausnutzung von Nahrungsfaktoren kann auch auf dem Wege über die Hemmung von Verdauungsenzymen zustande kommen.

c) Durch zu große Förderung der Resorption, so daß Substanzen, die normalerweise kaum oder gar nicht resorbiert werden, in den Organismus gelangen. Dieses Problem ist bei den Netzmitteln oder Emulgatoren zu berücksichtigen. Ein Beispiel ist die neuerdings entstandene Diskussion über die „cocarcinogene Wirkung" solcher Substanzen.

2. Durch eine indirekte Veränderung des Nährwertes, sei es im Sinne der Verbesserung, sei es im Sinne der Verschlechterung. Eine solche kann über eine Beeinflussung der Bakterienflora im Darm erfolgen. Diese Gesichtspunkte spielen im Bereich der klassischen, gegen den mikrobiellen Verderb gerichteten Konservierungsmittel und bei der Verwendung der Antibiotica zu Zwecken der Tierernährung und Konservierung eine Rolle.

3. Durch eine toxische Wirkung im eigentlichen Sinne des Wortes.

Die selbstverständliche Forderung, zum Schutze des Verbrauchers eine gesetzliche Regelung der chemischen Lebensmittelzusätze herbeizuführen, setzt voraus, daß dem Gesetzgeber einwandfreie Unterlagen über die gesundheitliche Gefährdung bzw. die Unbedenklichkeit der hier eingesetzten Substanzen zur Verfügung stehen. Infolgedessen wurden in allen Staaten wissenschaftliche Gremien zur Bearbeitung dieser Probleme geschaffen. In Deutschland wurden schon bald nach dem Kriege im Einvernehmen mit der Bundesregierung von der Deutschen Forschungsgemeinschaft Kommissionen zur Prüfung der gesundheitlichen Folgen von Lebensmittelzusätzen berufen. Die in diesem Zusammenhange wichtigsten drei Kommissionen haben sich mit der Bearbeitung der cancerogenen Wirkungen von Lebensmittelfarben, mit der Bleichung von Lebensmitteln und mit der Lebensmittelkonservierung zu befassen. Infolge der engen internationalen wirtschaftlichen Verflechtung, vor allem auf den Sektoren der Lebensmittelerzeugung und Lebensmittelverarbeitung, lassen sich so schwerwiegende Fragen wie die der chemischen Lebensmittelzusätze, die ja die ganze Menschheit betreffen, nicht auf einer engen nationalen Basis lösen. Infolgedessen stehen die einzelnen nationalen Kommissionen in einem engen gegenseitigen Kontakt und haben für die wichtigsten Fragen, wie z. B. die Grundsätze der Überprüfung der gesundheitlichen Unbedenklichkeit von Lebensmittelzusätzen, allgemein anerkannte Grundsätze aufgestellt.

Die von den Kommissionen der Deutschen Forschungsgemeinschaft zu den Fragen der chemischen Lebensmittelkonservierung erarbeiteten Ergebnisse wurden in Beschlüssen niedergelegt, von denen die wichtigsten im folgenden im vollen Wortlaut wiedergegeben werden sollen, da aus ihnen die grundsätzliche Einstellung der Kommissionen hervorgeht.

Kommission zur Prüfung der Lebensmittelkonservierung
(Beschluß vom 11. Okt. 1954)

Die Kommission ist der Ansicht, daß die Verwendung von Konservierungsstoffen zur Haltbarmachung von Lebensmitteln — ausgenommen diejenigen konservierend wirkenden Stoffe, die auch für sich allein als Lebensmittel Verwendung finden — zwar nicht erwünscht ist, aber zur Sicherung einer ausreichenden Versorgung der Bevölkerung mit Lebensmitteln zur Zeit nicht entbehrt werden kann.

Eine allgemeine gesetzliche Regelung über die Verwendung von Konservierungsstoffen zur Haltbarmachung von Lebensmitteln liegt — abgesehen von einigen Einzelbestimmungen über den Zusatz bestimmter Konservierungsstoffe zu bestimmten Lebensmitteln — in der Bundesrepublik bis jetzt noch nicht vor, weil noch keiner der bisher ausgearbeiteten Verordnungsentwürfe rechtskräftig geworden ist.

Zur Frage der Verwendung von Konservierungsstoffen für die Haltbarmachung von Lebensmitteln hat die Kommission folgende Beschlüsse gefaßt:

1. Als Konservierungsstoffe werden solche Stoffe angesehen, die dazu bestimmt sind oder dazu dienen, nachteilige Veränderungen von Lebensmitteln zu verzögern oder zu verhindern, sofern sie selbst Bestandteile der Lebensmittel werden. Dementsprechend fallen unter die Konservierungsstoffe solche gegen mikrobiell bedingte, chemische, physikalische oder sonstige nachteilige Veränderungen der Lebensmittel.

2. Konservierungsstoffe dürfen bei Lebensmitteln nur verwendet werden, wenn

a) eine ausreichende Haltbarkeit nicht durch erhöhte Sorgfalt bei der Gewinnung, Herstellung, Verpackung und Lagerung des Lebensmittels erzielt werden kann,

b) ihre Verwendung im Interesse der Volksernährung als unerläßlich anerkannt ist, sowie

c) ihre gesundheitliche Unbedenklichkeit, auch bei dauernder Aufnahme, in den verwendeten Mengen unter Berücksichtigung eines ausreichenden Sicherheitsfaktors für die physiologische Wirkung nachgewiesen und anerkannt ist. Die mögliche Auswirkung der gleichzeitigen Aufnahme mehrerer Konservierungsstoffe ist dabei zu berücksichtigen.

3. Konservierungsstoffe dürfen nicht in größeren Mengen verwendet werden, als zur Konservierung unter Berücksichtigung eines ausreichenden Sicherheitsfaktors für die technische Wirkung notwendig ist.

4. Für die zur Haltbarmachung von Lebensmitteln zuzulassenden Konservierungsstoffe sind besondere Reinheitsanforderungen aufzustellen.

5. Lebensmitteln, die der Verbraucher in berechtigter Erwartung als frische Lebensmittel kauft oder die mit Hinweisen auf eine besondere Qualität oder Reinheit in den Verkehr gebracht werden, dürfen keine Konservierungsstoffe zugesetzt werden.

6. Der Zusatz von Konservierungsstoffen zu Lebensmitteln ist unzulässig, wenn dadurch nur der Anschein einer besseren Beschaffenheit erweckt werden soll und der Verbraucher durch einen solchen Zusatz über den wahren Wert des Lebensmittels getäuscht werden könnte.

7. Die Zahl der anzuerkennenden Konservierungsstoffe soll möglichst klein gehalten werden. Neue Konservierungsstoffe sollen nur zugelassen werden, wenn sie bereits anerkannten überlegen sind.

8. Der Zusatz von Konservierungsstoffen zu Lebensmitteln ist in allen Fällen kenntlich zu machen. Die Kommission hält darüber hinaus die Angabe der im einzelnen verwendeten Konservierungsstoffe für erwünscht.

Kommission zur Untersuchung des Bleichens von Lebensmitteln
(Beschluß vom 1. Juni 1955)

Nach ihrer Satzung trägt die Deutsche Forschungsgemeinschaft die Verantwortung für die Beratung der deutschen Regierungsstellen in allen Fällen, in denen die Gesetzgebung auf wissenschaftliche Erkenntnisse gestützt werden muß. Im Bewußtsein dieser Verantwortung hat die Deutsche Forschungsgemeinschaft eine Kommission berufen und ihr den Auftrag erteilt, festzustellen, welche Grundsätze bei der Bleichung von Lebensmitteln und der Behandlung von Mehl zwecks Beeinflussung der Backeigenschaften beachtet werden müssen, um Gesundheitsschädigungen der Bevölkerung zu vermeiden.

Die Kommission hat hierzu einstimmig folgende Beschlüsse gefaßt:

1. Hauptlebensmitteln sollen grundsätzlich keine Chemikalien zugesetzt werden; sie sollen auch nicht mit solchen behandelt werden.

2. Das Bleichen aller Mehlarten ist überflüssig und zu verbieten.

3. Roggenmehle erfordern keine Behandlung mit Chemikalien; eine solche ist daher auch in Zukunft zu verbieten.

4. Ein in seiner Backfähigkeit genügendes und gleichmäßiges Weizenmehl kann auch ohne die Behandlung mit Chemikalien erzeugt werden, z. B. durch entsprechend lange Lagerung zur Reifung, durch Züchtung und Sortenwahl und durch Einfuhr von Qualitätsweizen.

5. Zur Zeit ist die sofortige Einstellung der Behandlung des Weizenmehles mit Chemikalien nicht möglich, weil die obigen Voraussetzungen zum Teil noch nicht erfüllt sind.

6. Als im technischen Effekt völlig genügende und toxikologisch unbedenkliche Substanz steht die Ascorbinsäure zur Verfügung. Ihre Verwendung kann daher ohne weiteres gestattet werden. Eine Verbilligung der Herstellungskosten würde ihren Einsatz stark fördern.

7. Für eine Übergangszeit kann die Behandlung von Weizenmehlen mit Kaliumbromat in einer Höchstmenge bis zu 2 mg-% geduldet werden, aber nur für solche Weizenmehle, welche der Verbesserung ihrer Backfähigkeit bedürfen, und nur in den technisch notwendigen Mengen. Diese Behandlung ist zu deklarieren. Die Behandlung darf nur in den Mühlen erfolgen. Mischungen von Kaliumbromat mit Backhilfsmitteln sind zu verbieten.

Die von der *Deutschen Forschungsgemeinschaft* zur Überprüfung der Lebensmittelkonservierung und des Bleichens von Lebensmitteln eingesetzten Kommissionen haben sich demnach in ihren Beschlüssen grundsätzlich auf den Standpunkt gestellt, daß Grundlebensmittel — also Lebensmittel, welche die Hauptmenge der Nahrung darstellen — weder mit Chemikalien versetzt noch mit solchen behandelt werden sollen. Der

Zusatz solcher Stoffe soll somit auf bestimmte Fälle beschränkt bleiben. Der Kreis der als Zusätze, etwa als Konservierungsmittel, zugelassenen Substanzen soll so klein wie nur irgendwie möglich gehalten werden. Weiterhin soll die Höhe des Zusatzes so gering wie möglich bleiben, andererseits aber doch so groß sein, daß der beabsichtigte technische Effekt tatsächlich erreicht wird.

Dieser letzte Punkt ist von der größten Bedeutung. Denn *verdorbene Lebensmittel* können erfahrungsgemäß von der größten Gefahr sein und zu schwersten Schädigungen, ja zum Tode führen, während sich die Frage nach der eventuellen Schädigung durch die Zusatzstoffe völlig im Bereich des Spekulativen und Subjektiven bewegt. Dabei ist nicht nur an das, allerdings besonders sinnfällige Gebiet des bakteriell bedingten Verderbs mit der Gefahr der Infektion oder der Aufnahme von Toxinen zu denken. Auch nicht bakteriell bedingte Umsetzungen in den Lebensmitteln, die Einwirkung von Sauerstoff — etwa im Sinne der Oxydation der ungesättigten Fettsäuren, vor allem der Polyensäuren —, die Reaktion zwischen reduzierenden Zuckern und Aminosäuren und vielleicht auch noch anderen Aminogruppen enthaltenden Nahrungsbestandteilen, photochemisch aufgelöste Prozesse können nicht nur erhebliche Einbußen an essentiellen Nahrungsfaktoren und damit eine wesentliche Verschlechterung des Nährwertes verursachen, sie können auch unmittelbar zur Bildung von toxischen Substanzen Anlaß geben. Leider sind unsere Kenntnisse über dieses Gebiet noch außerordentlich beschränkt. Dies ist teilweise auf den sehr verwickelten Chemismus zurückzuführen. Es zeichnet sich aber schon ganz klar ab, daß gewisse Oxydationsprodukte von Fettsäuren stark toxische Eigenschaften besitzen. Meist wird die experimentell bisher nur schlecht begründete mögliche cancerogene Wirkung solcher Substanzen diskutiert. Solche Substanzen können jedoch schon in einem kurzfristigen Fütterungsversuch von einigen Wochen den Tod der Versuchstiere verursachen. Die gefährlichen Eigenschaften solcher Substanzen lassen sich insbesondere dann demonstrieren, wenn man die Ernährung der Tiere nicht optimal gestaltet, etwa die Eiweißzufuhr etwas zu nieder wählt. Ein anoxydiertes also ranziges Fett, ist wesentlich gesundheitsschädlicher als ein mit einem Antioxydans versetztes, wobei noch daran zu denken ist, daß es eine Reihe von Antioxydantien gibt — auch außerhalb der bekanntesten in diesem Sinne wirksamen Naturstoffen, Tokopherol und Ascorbinsäure —, die nach den bisher vorliegenden Untersuchungen als duldbar aufzufassen sind.

Nebenbei sei erwähnt, daß das angeschnittene Problem auch bei der Durchführung von Fütterungsversuchen von Bedeutung sein kann. Die Durchsicht der Literatur erweckt den Verdacht, daß dieser Gesichtspunkt in Laboratorien, die keine ernährungsphysiologischen Erfahrungen besitzen, nicht immer beachtet wird.

Im Juli 1956 fand in Wageningen (Holland) eine Konferenz europäischer Wissenschaftler über die Verwendung von Lebensmittelzusätzen statt unter Beteiligung der Weltgesundheitsorganisation (WHO), der Food and Agriculture Organization (FAO) und der Commission Internationale des Industries Agricoles (CIIA). Bei dieser Konferenz wurde eine Einigung über die Art des Vorgehens bei der Überprüfung der chronischen Toxidität erzielt und der folgende Beschluß gefaßt: „Lebensmittelzusatzstoffe sind nur zulässig, wenn sie in Tierversuchen auch bei langdauernder Zuführung in einer Dosierung, die beträchtlich über der in der Nahrung zu erwartenden Konzentration und Menge liegt — also unter Einhaltung eines ausreichenden Sicherheitsabstandes — und bei Beobachtung über die ganze Lebensdauer keine schädigende Wirkung zeigen. Die Versuche sollen bei mindestens einer Tierart möglichst über zwei Generationen ausgedehnt werden. Eine Substanz, die sich bei der Prüfung unter diesen Bedingungen bei irgendeiner Tierart und in irgendeiner Applikationsart überzeugend als krebserregend erwiesen hat, kann nicht als unbedenklich für die menschliche Gesundheit angesehen werden."

Die Durchführung derartig langer Untersuchungen ist aber außerordentlich umständlich und erfordert, abgesehen von der Zeit, einen ungewöhnlich großen Aufwand an Arbeit und Geldmitteln. Daher sind andere Untersuchungsverfahren als Vorversuche von großem Wert, weil durch sie unter Umständen schon Substanzen ausgeschieden werden können, die unter keinen Umständen als Lebensmittelzusätze duldbar sind. Die wichtigsten hierzu erwähnenden Untersuchungen betreffen:

1. Chemische und physikalische Eigenschaften sowie Ausbau von Analysemethoden zur Bestimmung der Substanz, ein Punkt, der für die Lebensmittelüberwachung naturgemäß von großer Bedeutung ist, aber auch für die biochemische Untersuchung eine Notwendigkeit darstellt.

2. Bestimmung der akuten Toxicität und Prüfung auf akute pharmakologische Wirkungen. Es ist selbstverständlich, daß Substanzen, die bei geringer Dosierung akut toxisch wirken oder handgreifliche pharmakologische Wirkungen entfalten, als Lebensmittelzusätze nicht in Betracht kommen. Wichtig ist auch die Applikationsart. Reaktionen, die nach Gaben per os auftreten, sind schwerwiegender als solche nach unphysiologischer Applikationsart. Endlich gehört hierher noch die Frage, ob allergische Reaktionen oder Sensibilisierungen zu beobachten sind.

3. Überprüfung der biochemischen Eigenschaften der Substanz, wie Umfang der Resorption, Frage der Speicherung im Organismus, Verhalten der Substanz im Stoffwechsel, Art und Ausscheidungswege der Stoffwechselprodukte. Auch diese Untersuchungen ergeben wesentliche Gesichtspunkte. So scheiden von vornherein diejenigen Substanzen aus, die im Organismus gespeichert werden, wie etwa Borsäure. Hierbei ist insbesondere auch daran zu denken, daß eine vielfache Konzentrierung

von Substanzen im Verlaufe der Ausscheidungsprozesse stattfinden kann. Nierenschäden sind daher eine häufige Folge der Einverleibung von Substanzen, ohne daß Störungen der Funktion oder anatomische Veränderungen in anderen Organen gefunden werden. Endlich ist zu erwähnen, daß das Skeletsystem Schwermetalle speichert, sei es in das Kristallgitter durch heteroionische Austauschprozesse, sei es durch Einlagerung in die organische Matrix. Da es sich hierbei zum Teil um Gleichgewichtszustände handelt, bildet das Skelet in diesem Falle eine Quelle, aus der zu einer späteren Zeit nach Sistieren der Zufuhr ein Fluß der schädlichen Substanz in die Körperflüssigkeiten und Zellen erfolgt. In diesem Zusammenhang sind noch weitere Gesichtspunkte zu nennen, wie etwaige Reaktionen der fraglichen Stoffe mit physiologischen Substanzen, etwa Körperbausteinen oder wesentlichen Nahrungsfaktoren. Ein primärer Eingriff in den Zellchemismus wäre die direkte Wirkung einer Substanz als Stoffwechselantagonist im Sinne der Wirkung eines Strukturanalogen, also einer Substanz, die in der lebenden Zelle die Stelle eines Metaboliten besetzt, ohne dessen Funktion übernehmen zu können wie bei den klassischen Beispielen der Antivitamine, Antiaminosäuren u. dgl. In dem hier interessierenden Bereich der Lebensmittelzusätze hat ein hierher gehörendes Beispiel großes Aufsehen erregt: die Bildung von Methioninsulfoximin durch die Einwirkung von NCl_3 auf Methionin und die durch diesen Stoffwechselantagonisten erzeugbare Hundehysterie. Einen anderen Fall eines primären Eingriffs in die chemische Struktur von Zellbausteinen bietet der Formaldehyd, der durch Ausbildung von Brückenbindungen Proteine sowie Nucleinsäure vernetzen kann.

Der direkte Eingriff in den Zellstoffwechsel durch Hemmung oder Aktivierung bestimmter Enzymsysteme ist vermutlich der häufigste Wirkungsmechanismus. Allerdings ist auf dem Gebiet der Lebensmittelzusatzstoffe in dieser Beziehung bisher wenig bekannt. Weitere Gesichtspunkte sind Beeinflussungen der Darmflora, Beeinflussung der Resorption und dergleichen.

4. Untersuchung der chronischen Toxicität. Dies ist der schwierigste und langwierigste Teil der ganzen Überprüfung. Bei derartigen chronischen Fütterungsversuchen sind die wichtigsten Kriterien: Wachstumsgeschwindigkeit, Fortpflanzungsfähigkeit, Gesundheitszustand der Tiere, Lebensdauer. Hinzu kommen die Verfolgung des Blutbildes und die anatomische Untersuchung (makroskopisch und mikroskopisch) von lange Zeit, eventuell über mehrere Generationen, mit der zu testenden Substanz gefütterten Tiere. Damit wird unter anderem auch dem Umstande Rechnung getragen, daß die Anfälligkeit gegen Schädigung in bestimmten Lebensaltern größer sein kann als in anderen.

Bei der Durchführung der chronischen Fütterungsversuche ergibt sich eine Reihe von Gesichtspunkten, die einer Erwähnung bedürfen.

Der erste Punkt betrifft Art und Zahl der zu verwendenden Tiere. In den meisten Fällen werden kurz lebende Nagetiere verwendet, aus Gründen, die auf der Hand liegen, wie kurze Lebensdauer, relativ einfache und wenig kostspielige Haltung. Dadurch wird die Verwendung einer größeren Tierzahl möglich, was eine statistische Auswertung der Versuchsergebnisse ermöglicht und daher die Sicherheit der Auswertung außerordentlich verbessert. Infolge der später noch zu diskutierenden Speciesunterschiede in der Empfänglichkeit gegenüber Schädigungen, und zwar im qualitativen und quantitativen Sinne, hat sich allgemein die Auffassung durchgesetzt, daß langfristige Versuche auch an — zum mindesten — einer anderen Tierart, also Nichtnagetier, durchgeführt werden sollen. Aus mehr gefühlsmäßigen als sachlich begründeten Erwägungen wird der Affe als Primat häufig als besonders geeignet betrachtet. Die außerordentlich großen Schwierigkeiten, die sich dem Experimentieren mit Affen und insbesondere der Verwendung einer größeren Anzahl von Tieren entgegenstellen, haben es mit sich gebracht, daß Untersuchungen an ihnen nur in Ausnahmefällen ausgeführt worden sind. Das weitaus nach dem Nagetier am häufigsten verwendete Versuchstier ist der Hund. Aber schon bei diesem Tier ergeben sich experimentelle Schwierigkeiten, die ganz abgesehen vom rein Technischen (Kostspieligkeit der Tierhaltung z. B. auf 15—20 Hunde eine Hilfskraft) die Auswertung der Versuche unsicher machen, etwa, abgesehen von der zumeist geringen Tierzahl, das genetisch uneinheitliche Tiermaterial, die nicht leicht konstant zu haltenden Umweltsbedingungen und die oft fragliche Exaktheit der Dosierung.

Der chronische Fütterungsversuch wird ausgeführt, um festzustellen, ob man bei einer gegebenen Dosis keine abnorme Reaktion der Versuchstiere beobachtet bzw. welches die größte Dosis ist, bei der keine abnorme Reaktion beobachtet wird, also durch Auswertung negativer Befunde. Da hierbei jedoch anzunehmen ist, daß doch irgend welche Tiere abnorm reagieren, ihr Prozentsatz jedoch zu gering ist, um mit Sicherheit experimentell gefunden zu werden, müssen folgende zwei Fragen geklärt werden:

1. Welches ist der höchste Prozentsatz einer abnormen Reaktion, den man vernachlässigen will und

2. wie groß ist die Wahrscheinlichkeit, daß man bei der verwendeten Versuchsanordnung auch tatsächlich eine solche abnorme Reaktion zu sehen bekommt.

Der Einfluß toxischer Substanzen auf die Wachstumsintensität der Versuchstiere ist der am häufigsten herangezogene Test, wobei als Kriterium zumeist die Gewichtszunahme dient.

Das Wachstum ist die Resultante von Biosynthese und Abbau von Körpersubstanz, so lange noch die Biosynthese überwiegt. Beim Erwachsenen sind beide Prozesse gegenseitig ausbalanciert. Schon diese Über-

legung zeigt, daß das Wachstum ein recht komplexer Vorgang ist. Die Wachstumsintensität ist nicht konstant, die Gewichtszunahmen nähern sich asymptotisch dem endgültigen Gewicht. Daraus geht hervor, wie wichtig die altersmäßig und gewichtsmäßig gleiche Zusammensetzung der zu vergleichenden Tiergruppen und Kontrollen ist. Die Wachstumsintensität hängt in hohem Maße von der Art und Menge der Nahrung ab. Daraus ergeben sich zahlreiche Schwierigkeiten und Fehlermöglichkeiten bei Verwendung des Wachstumstestes. So, wenn die zu testende Substanz aus irgendwelchen Gründen stoffwechselinert ist und vom Organismus nicht zur Energiegewinnung herangezogen werden kann oder wenn die zu testende Substanz dem Futter einen solchen Geschmack verleiht, daß die Ratten dieses Futter entweder bevorzugen oder verweigern. In beiden Fällen muß man eine Fütterungstechnik verwenden, die eine gleiche Futteraufnahme bei allen Tiergruppen gewährleistet, z. B. die Technik des „paired feeding". Eventuelle auf solchen Faktoren beruhende Störungen werden sofort erkannt, wenn man bei den Versuchen die pro Gramm Futter (bzw. Gramm N) in der Zeiteinheit erzielte Gewichtszunahme („Futter-Efficiency") bestimmt. Dies setzt aber voraus, daß die Futteraufnahme genau gemessen wird, wozu Stoffwechselkäfige besonderer Konstruktion verwendet werden müssen, vor allem auch, um ein Verstreuen des Futters unmöglich zu machen.

Eine genaue Bestimmung der verzehrten Futtermenge ist schon allein deswegen eine unabdingbare Voraussetzung für die Erzielung einwandfreier Ergebnisse, da sonst die tatsächlich aufgenommene Menge der zu testenden Substanz unbekannt bleibt. Eine besondere Gefahrenquelle bringen aus naheliegenden Gründen die Sonntage und Feiertage mit sich.

In diesem Zusammenhange sei noch auf andere Fehlermöglichkeiten bei der Durchführung von Fütterungsversuchen hingewiesen. Zumeist wird die Futtermischung jeweils für längere Zeitabschnitte hergestellt, so daß sich bei der Lagerung allerlei Veränderungen ergeben können, die für den Versuchsausfall nicht unwichtig sind und eine Toxicität vortäuschen können, etwa infolge der Zerstörung von Vitaminen oder der Antoxydation der mehrfach ungesättigten Fettsäuren, bei der recht differente Substanzen entstehen. Eine Fehlerquelle kann auch die Herstellung der Futtermischung sein, bei der durch zu intensive Durchmischung mit der Luft Oxydationen vorkommen oder Schwermetallspuren aus der Apparatur eingeschleppt werden, die katalytisch Oxydationsprozesse beschleunigen.

Bei der Bestimmung der chronischen Toxicität einer Substanz ist einer der heikelsten Punkte die Größe der Sicherheitsspanne, also das Verhältnis zwischen derjenigen Menge Substanz, die gerade eben noch nicht toxisch wirkt oder konkrete pharmakologische Wirkungen hervorruft und dem unter normalen Verhältnissen dem Körper mit der Nahrung

zugeführten Quantum des gleichen Stoffes, beides auf gleiches Zeitintervall bezogen. Die Sicherheitsspanne läßt erkennen, in welchen Grenzen sich die Konzentration der Substanz im Lebensmittel bewegen kann, ohne daß eine Gefährdung des Verbrauchers gegeben ist. Naturgemäß ist es wünschenswert, daß die Sicherheitsspanne möglichst groß ist, schon allein, um die individuellen, altersmäßig oder durch den wechselnden Gesundheitszustand oder anderweitig begründeten Unterschiede in der Empfindlichkeit gegen die Substanz zu berücksichtigen.

Bei der Verfütterung extrem hoher Dosen im Tierexperiment muß geprüft werden, ob eine solche Versuchsanordnung überhaupt sinnvoll ist. In vielen Fällen ergeben sich bei Untersuchungen mit überhöhten Dosen völlig fehlerhafte Ergebnisse. Wenn z. B. eine Substanz zur Untersuchung gelangt, die im Stoffwechsel nicht zur Energiegewinnung verwertet werden kann, so bedeutet eine 10%ige Beimischung eine gegenüber den Kontrollen um 10% verringerte Calorienzufuhr, die naturgemäß eine geringere Wachstumsintensität und verzögerte Erreichung der Geschlechtsreife der Tiere ergibt, Effekte, die rein auf dem Calorienmangel der Diätform beruhen und nichts mit der Schädlichkeit der zu testenden Substanz zu tun haben. Weiterhin bedingen derart hohe Konzentrationen in vielen Fällen osmotische Effekte, die gleichfalls völlig unspezifisch sind, von jedem beliebigem Salz (etwa NaCl) in derselben Weise bei gleicher Konzentration gegeben würden und nichts mit der speziellen physiologischen oder toxischen Wirkung der betreffenden zu testenden Substanz zu tun haben. Zum begrenzenden Faktor wird dann die Konzentrierungsfähigkeit der Niere. Gäbe man einem Menschen eine 10% Kochsalz enthaltende Nahrung, so müßte dieser (bei der bekannten maximalen Konzentrierungsfähigkeit der Niere für Salze von 0,37 n Salzkonzentration im Harn) etwa 30 l Harn produzieren, um diese Salzmenge ausscheiden zu können. Da dies unmöglich ist, stirbt er an einer Salzvergiftung. Von keinem physiologischen Mineralstoff oder Spurenelement würde eine 100fach höhere Dosis als die übliche Tagesdosis symptomenlos toleriert werden. Vielfach sind noch höhere Dosen von zu untersuchenden Substanzen verfüttert worden. Zu welchen Trugschlüssen dies führt, zeigt das bekannte, von Frazer oft zitierte Beispiel (Tab. 1).

Die mit 25% NaCl gefütterten Tiere sterben rasch wegen der osmotischen Störungen, die 25% Vitamin C erhaltende Tiere gehen ebenfalls rasch zugrunde, aus Ursachen, die im einzelnen nicht bekannt sind. Dagegen überleben die den synthetischen Emulgator Polyoxyäthylenstearat erhaltenden Tiere und nehmen sogar besser an Gewicht zu als Kontrolltiere mit Zucker, da die die Hauptmasse des Emulgators ausmachende Fettsäure im Stoffwechsel oxydiert und zur Energielieferung vom Organismus herangezogen werden kann, sowie einen höheren Energiegehalt als der Zucker hat.

Wie man sieht, ist das Problem der Sicherheitsspanne eines der heikelsten in diesem Zusammenhang. Es ist selbstverständlich, daß man rein gefühlsmäßig den Wunsch hat, daß diese Sicherheitsspanne möglichst groß sein müsse. Eine schematische Festsetzung einer solchen Sicherheitsspanne auf einen bestimmten Wert, sagen wir 1 : 100, 1 : 50 oder 1 : 25 ist aber unmöglich. Da das Gebiet der Lebensmittelzusätze

Tabelle 1. *Wirkung der Verfütterung überhöhter Dosen verschiedener Substanzen* (Frazer). Versuche an Ratten. Das Futter enthielt je 25% der angeführten Substanzen

Substanz	Wöchentliche Gewichtszunahme in Grammen			Prozentsatz der überlebenden Tiere		
	1. Woche	2. Woche	3. Woche	1. Woche	2. Woche	3. Woche
NaCl	— 9	— 2	—	40	30	0
Vitamin C	— 2	— 2	—	50	40	0
Zucker	+22	+15	+21	100	100	100
Polyoxyäthylenstearat . .	+26	+26	+20	100	100	100

stark auch von medizinischen Laien, z. B. Lebensmittelchemikern, bearbeitet wird, besteht naturgemäß sehr leicht die Gefahr solcher Schematisierungen. Erfahrungen aus der Ernährungsphysiologie zeigen, daß unentbehrliche Nahrungsfaktoren, wenn man sie in der 25fachen, 50fachen oder 100fachen als der wünschenswert angesehenen (bzw. der optimalen) gibt, zu Reaktionen im Organismus Anlaß geben, die man getrost als toxisch bezeichnen kann. Die Beispiele Kochsalz und Ascorbinsäure wurden schon erwähnt.

In der neueren Zeit ist in verschiedenen Laboratorien übereinstimmend gezeigt worden, daß die Polyphosphate nur insoweit im Organismus Wirkungen entfalten, als sie zu Orthophosphat aufgespalten werden. Der Umfang, in welchem dies geschieht, hängt teilweise vom Kondensationsgrad, teilweise von der chemischen Struktur (ob linear verknüpft, ob ringförmig) ab. Zumeist ist aber der Umfang der Spaltung im Magen-Darm-Trakt nur gering. Bei allen Fütterungsversuchen hat es sich nun ergeben, daß sich Orthophosphat, in derselben Dosis wie das Polyphosphat gegeben, schädlicher auf die Versuchstiere auswirkte als das Polyphosphat und daß die Spanne zwischen der notwendigen und der sich schädlich auswirkenden Zufuhr an Orthophosphat wesentlich kleiner ist, als man bisher wußte. Nach den vorliegenden Erfahrungen betrachtet man eine P-Zufuhr in Höhe von 0,22% der Futtertrockensubstanz für Ratten als notwendig, um ein optimales Wachstum zu erzielen. Bei einer P-Zufuhr von mehr als 1% im Futter lassen sich schon anatomische Veränderungen der Nieren nachweisen. Man kann also offensichtlich die physiologische Phosphatzufuhr nicht ungestraft auf das fünffache erhöhen. In dem Zusammenhange der Polyphosphate ist noch zu erwähnen,

daß vielfach in Unkenntnis der chemischen Eigenschaften dieser Substanzen der Verdacht geäußert wurde, daß Verabreichung derselben zu Störungen der Resorption von Calcium, Eisen, Kupfer und anderen Spurenelementen Anlaß geben könne. Nun sind die kondensierten Phosphate Ionenaustauscher. Bei Gegenwart größerer Konzentrationen von Natrium oder Kalium, was ja bei der üblichen Ernährung immer der Fall ist, können die kondensierten Phosphate überhaupt kein Calcium, Eisen, Kupfer, Eisen usw. binden. In der Tat haben auch gründliche in dieser Richtung angestellten Versuche, insbesondere die schönen Bilanzversuche von Hahn ergeben, daß die Verabreichung von Polyphosphaten ohne jeden Einfluß auf den Mineralstoffwechsel ist.

Fluor ist ein regelmäßig in unserer Nahrung anzutreffendes Spurenelement. Es ist gegenwärtig noch unentschieden, ob es als ein lebensnotwendiges Spurenelement aufzufassen ist, dessen Mangel also konkrete Ausfallsymptome erzeugen würde. Aber sicher ist es, daß sich unser Organismus mit diesem Element auseinandersetzen muß. Nun ist bekanntlich eine bestimmte Fluoraufnahme im Zusammenhange mit dem Cariesproblem sehr nützlich. Allgemein wird eine Fluorkonzentration von 1 ppm in dieser Beziehung als optimal betrachtet. Schäden im Sinne der Fluorose sind aber schon bei Fluorkonzentrationen von 2 ppm beschrieben worden.

Ein anderes, vielleicht noch interessanteres Problem bietet die Aminosäureimbalanz. Die bisher vorliegenden experimentellen Erfahrungen haben einwandfrei ergeben, daß bei der Zufuhr an Aminosäuren bestimmte Relationen derselben eingehalten werden müssen. Stärkere Abweichungen von diesen Relationen verursachen Störungen im Eiweißstoffwechsel, die sich im Tierversuch in Wachstumsverzögerungen junger Tiere, in Leberverfettungen und anderem mehr zu erkennen geben. Wir haben in einem langfristigen, sich über 7 Generationen von Ratten erstreckenden Versuch darüber hinaus bei bestimmten Aminosäuren (Lysin) Störungen der Fortpflanzung, Verkürzung der Lebensdauer und Anfälligkeit gegenüber den üblichen Infektionen der Laboratoriumsratten gesehen, also alles Symptome, wie man sie auch im chronischen Fütterungsversuch bei der Überprüfung sogenannter Chemikalien zu sehen bekommt.

Ursache ist die Störung der Verwertung anderer Aminosäuren durch Verabreichung zu großer Gaben einer einzigen Aminosäure, also Entstehung von Antagonismen, die — zum mindesten weitgehend — auf Konkurrenzen beim Transport der Aminosäuren aus dem extracellulären Raum in die Zellen beruhen. Diese wirken sich naturgemäß auf den Umfang der Proteinsynthese in den Zellen aus. Dies ist insbesondere deswegen leicht verständlich, weil die Zellen auch beim Eiweiß- und Aminosäurestoffwechsel schon von Hause aus unter ungünstigen Verhältnissen

bezüglich der Substrate zu arbeiten gezwungen sind und ihr Stoffwechsel nicht durch die Enzymausstattung, sondern durch die Konzentration der Substrate begrenzt wird.

Man kann nun Aminosäureimbalanzen nicht mit jeder beliebigen Aminosäure erzeugen, sondern nur mit solchen, bei denen es gelingt, durch die Zufuhr eine dauernde erhöhte Konzentration in der extracellulären Flüssigkeit aufrecht zu erhalten. So führt Verabreichung von Glutaminsäure oder Tryptophan zu keinen Aminosäureimbalanzen. In anderen Fällen kann man das Auftreten einer Aminosäureimbalanz verhindern, wenn man Prozesse anfacht, welche den Verbrauch an der betreffenden Aminosäure erhöhen. Beispielsweise läßt sich die durch Methionin erzeugbare Aminosäureimbalanz durch gleichzeitige Gaben von Glykokoll oder Glykocyamin verhindern, weil dann erhebliche Methioninmengen zu Methylierungszwecken eingesetzt werden.

Die Aminosäuredosis, die man zu der Erzeugung einer Aminosäureimbalanz benötigt, liegt teilweise schon in der Größenordnung von dem doppelten bis dreifachen der im Wachstumstest als optimal angesehenen.

Wir finden also hier bei Substanzen, die über jedem Zweifel, körperfremd zu sein, erhaben sind, toxische Reaktionen nach Zufuhren, welche das physiologische Optimum gar nicht allzu sehr überschreiten.

Eine weitere Fehlerquelle, die bei manchen Versuchen über die Wirkungen von Lebensmittelzusätzen eine Rolle gespielt hat, ist die Verwendung von nicht chemisch reinen Substanzen, so daß toxische Wirkungen von Verunreinigungen der Substanz vorgetäuscht werden.

Hat eine Substanz bei allen diesen biochemischen Untersuchungen und bei der Überprüfung auf die akute und chronische Toxicität keinen Hinweis auf eine schädliche Wirkung unter Zugrundelegung einer angemessenen Sicherheitsspanne zwischen den als Lebensmittelzusatz zu erwartenden Konzentrationen sowie Gesamtdosen und den experimentellen Bedingungen ergeben, kann man sie mit einigermaßen gutem Gewissen auf Grund des gegenwärtigen Standes unseres Wissens als *„duldbar"* zu Zwecken des Lebensmittelzusatzes betrachten. Ihre völlige Unschädlichkeit ist verständlicherweise dadurch nicht bewiesen, und zwar aus verschiedenen Gründen, in erster Linie der Unzulänglichkeit des gegenwärtigen Wissenstandes. Denn bei fortschreitender Erkenntnis können sich neue Schädigungsmechanismen oder Kriterien der Schädlichkeit ergeben, die uns heute unbekannt sind.

Ein weiterer Gesichtspunkt ist der, daß sich nahezu alle Daten bei der Überprüfung der zu testenden Substanzen aus Tierversuchen ergeben und damit die Frage gestellt werden muß, inwieweit aus dem Tierversuch bindende Schlüsse auf die Verhältnisse beim Menschen zu ziehen sind.

Treibende Kraft aller sichtbaren oder sonst mit unseren Sinnen wahrnehmbaren Äußerungen des Lebendigen sind chemische Umsetzungen.

Diese erfolgen aber bei allen Lebewesen praktisch in denselben Systemen, mit denselben Substraten und unter Beteiligung derselben Biokatalysatoren (Fermente). Wo Unterschiede gefunden werden, ergeben sie sich zwanglos als Anpassung an bestimmte Umweltsfaktoren oder Funktionen. Daher ist es nicht verwunderlich, wenn es viele Einflüsse gibt, auf welche die lebende Substanz prinzipiell in derselben Weise reagiert, und daß dies insbesondere auch die Reaktion auf unphysiologische körperfremde Substanzen betrifft. Allerdings werden häufig große Unterschiede quantitativer Art beobachtet. Solche Unterschiede erschweren naturgemäß die Auswertung der Befunde vor allem in quantitativer Hinsicht erheblich.

Auf die vielen Vorzüge, die der Tierversuch bietet und die ihn gerade auch für die vorliegende Fragestellung unentbehrlich machen, braucht in diesem Kreise nicht eingegangen werden.

Die Beweiskraft vieler Beobachtungen beim Menschen, insbesondere solcher in diesem Zusammenhange ist gering. Erfahrungen beim Menschen beziehen sich auf Zufallsbeobachtungen, die vor allem bei den hier zu erwartenden, schleichend sich entwickelnden Schäden von vielen anderen Einflüssen überlagert werden. Eine sichere Verknüpfung von Ursache und Wirkung setzt in diesen Fällen das planmäßige Experiment voraus, also Eliminierung aller Variablen bis auf die eine zu untersuchende. Und dies ist — zum mindesten bei der langfristigen Untersuchung — nur im Tierexperiment möglich.

Es gibt aber auch Bereiche, die dem Tierexperiment völlig entzogen sind und die nur durch den Versuch am Menschen geklärt werden können, z. B. dann, wenn die organoleptische Wirkung oder eine auf höhere zentralnervöse Funktionen im Vordergrunde stehen oder wenn die Frage nach einer eventuellen Sensibilisierung zu klären ist. Für das Ausmaß der Gefährdung des Menschen durch die chemischen Lebensmittelzusätze gibt es keine objektiven Unterlagen. Die gesamte Diskussion hierüber spielt sich im Bereich des Subjektiven und Hypothetischen ab, und es ist dem Ermessen des einzelnen überlassen, wie hoch er die dadurch bedingte Gefahr einschätzt.

Am schwierigsten ist ohne Zweifel das Problem der chemischen Lebensmittelzusätze bei den gegen den mikrobiellen Verderb gerichteten Substanzen gelagert. Denn hier ist es das Ziel, lebende Zellen abzutöten bzw. in ihrer Entwicklung zu hemmen, also Eingriffe in Lebensprozesse. Hier erwartet man, im Gegensatz zu allen anderen Lebensmittelzusätzen, eine Rückwirkung auf die lebende Substanz. Bekanntlich kann der Wirkungsmechanismus, also Ort und Art des Eingreifens in den chemischen Betrieb der lebenden Zelle, recht verschieden sein. Allein hieraus ergeben sich schon unterschiedliche Empfänglichkeiten einzelner Lebewesen, die sich, abgesehen von Eigenheiten des Stoffwechsels (die zumeist nur quantitativer Art sind), auf Unterschiede des Baues der Zellmembran

oder des Zellaufbaues zurückführen lassen. Weitgehend verändert werden die Verhältnisse beim Übergang vom Mikroorganismus zum kompliziert aufgebauten, höheren tierischen Organismus.

Viele Konservierungsmittel, insbesondere die von der Konservierungsmittelkommission der Deutschen Forschungsgemeinschaft als duldbar betrachtete Benzoesäure und Ameisensäure, üben ihre Wirkung nur bei einer sauren Reaktion aus. Maßgebend für ihre Wirkung ist nur der undissoziierte Anteil. Der auf die Mikroorganismen wirksame Anteil ist um so größer, je niederer der p_H-Wert und je größer der Gehalt an freier Säure ist. Hierdurch und durch die oben erwähnten mehr oder minder ausgeprägten Unterschiede der Struktur und des Stoffwechsels ergeben sich Möglichkeiten großer quantitativer Wirkungsunterschiede zwischen Mikroorganismus und Mensch bzw. höherem tierischen Organismus. Eine sehr wesentliche Differenz besteht darin, daß die tierischen Zellen, abgesehen von dem Epithel des Verdauungstraktes, gar nicht mit der Außenwelt in Berührung kommt, sondern in der extracellulären Flüssigkeit als einem „Milieu intérieur" leben, dessen Konstanthaltung bezüglich seiner chemischen Zusammensetzung der Organismus zu seinen vordringlichsten Aufgaben zählt. Schon allein hierdurch ergeben sich wesentliche Unterschiede bezüglich Konzentrationen, p_H-Werten usw. gegenüber den Bedingungen, unter denen die chemischen Konservierungsmittel auf die Mikroorganismen einwirken, und es sind daher auch Unterschiede in der Größenordnung einiger Zehnerpotenzen hinsichtlich der Intensität der Wirkung möglich, obwohl die lebende Substanz in beiden Fällen unter gleichen äußeren Bedingungen in einer völlig analogen Weise reagieren würde. Daher hat auch die Aufgabe, solche Konservierungsmittel zu finden, bei denen aus einem der erwähnten Gründe die Spanne zwischen Empfindlichkeit des Mikroorganismus gegenüber der der menschlichen Zellen möglichst groß ist, Aussicht auf Erfolg.

Einige Beispiele mögen das Gesagte erläutern, Benzoesäure soll auf die Mikroorganismen durch Anreicherung in der Zellmembran und die dadurch bedingte Verminderung der Zellpermeabilität wirken. Voraussetzung für Erreichung von Effekten ist eine ausreichende Konzentration der Substanz und ein günstiger p_H-Wert. Beide Voraussetzungen der Zellschädigung sind im menschlichen Organismus nur sehr unvollkommen gegeben: die extracelluläre Flüssigkeit hat einen p_H-Wert von etwa 7,2—7,3 und die Konzentration an Benzoesäure erreicht außerordentlich rasch sehr niedere Werte, weil die Substanz schlecht in die Zellen eindringt und daher von der Niere mit großer Geschwindigkeit praktisch quantitativ eliminiert wird. Etwa in die Zellen eintretende Benzoesäure wird zudem durch Bindung an Glykokoll zu Hippursäure „entgiftet", insbesondere auch in der Niere beim Ausscheidungsprozeß. Man findet daher, auch unter Verwendung so empfindlicher Methoden wie Benutzung

von C^{14}-Benzoesäure praktisch keine Speicherung der Substanz im Organismus. Die chronische Zufuhr kleiner Benzoesäuremengen, mit denen der Organismus fertig wird, erscheint daher eher duldbar als von solchen Substanzen, für welche die erwähnten Voraussetzungen nicht zutreffen.

Ein anderes Beispiel bietet die Sorbinsäure, deren Stoffwechsel offensichtlich bei Schimmelpilzen einige Unterschiede gegenüber dem beim höheren tierischen Organismus aufweist. Beim höheren tierischen Organismus wird Sorbinsäure wie eine reguläre niedere Fettsäure umgesetzt. Es finden sich weder qualitative noch quantitative Unterschiede im Stoffwechsel gegenüber der gesättigten Säure mit 6 C-Atomen (Capronsäure) oder der einfach ungesättigten Säure (Hexensäure) oder der gesättigten Fettsäure mit 8 C-Atomen (Octansäure). Sorbinsäure liefert im intakten Organismus oder beim Arbeiten mit überlebenden Organpräparationen im gleichen Umfange CO_2 bzw. Acetessigsäure wie Capronsäure oder Octansäure als Energiequelle benützt. Ebenso fallen auch die zu beobachtenden Konkurrenzen mit anderweitigen Stoffwechselprozessen (etwa Acetylierungen) in die gleichen Größenordnungen wie bei den üblichen Nahrungsfettsäuren. Ein Hinweis, daß sich das konjugierte Doppelbindungssystem der Sorbinsäure im Sinne eines Oxydationskatalysators auswirke, hat sich bisher in den in dieser Richtung angestellten Versuchen nicht ergeben.

Das vorliegende Referat sollte zeigen, daß die durch die Lebensmittelzusätze aufgeworfenen Probleme sehr komplexer Natur sind und daß ihre Bearbeitung einen beträchtlichen Aufwand an Zeit und an Mühe erfordert.

G. Hecht (Wuppertal-Elberfeld): Gesundheitsgefährdung durch Farbstoffe?

1923 hat Führer die Pharmakologie und Toxikologie der organischen Farbstoffe monographisch dargestellt. In der Folgezeit ist in der Literatur ein Beobachtungsmaterial über Farbstoffe niedergelegt worden, das weit größeren Umfang hat als die Gesamtheit dessen, was Führer zu berichten hatte. Hier kann nur eine subjektive Auswahl mit besonderer Hervorhebung toxikologischer Fragen wiedergegeben werden.

„Farbstoffe" sind unter toxikologischen Gesichtspunkten nicht ohne Zwang zusammenfaßbar. Eine bunte Vielheit von biologischen und toxikologischen Wirkungen ist beschrieben, die vorherrschend nur einzelnen Farbstoffen oder kleinen Gruppen von solchen zukommen, niemals aber den Farbstoffen schlechthin gemeinsam sind. Zudem teilen die Farbstoffe solche Wirkungen nicht selten mit ungefärbten Stoffen. Beispiele dafür sind etwa die Abführwirkung des Phenolphthalein, die trypanocide Wirkung des Trypanblau oder die Heparin-neutralisierende Wirkung des Toluidinblau.

Organische „Farbstoffe" können als solche der Natur entnommen werden, die uns viele biochemisch höchst interessante gefärbte Stoffe liefert; man spricht von Blut-, Blüten-, Schmetterlings- und vielen anderen Farbstoffen. Die zu technischen Färbungen, vorherrschend zum Zwecke der Textilfärbung benutzten organischen Farbstoffe, von denen hier die Rede ist, werden dagegen überwiegend synthetisch gewonnen.

Die Betrachtung ihrer Toxikologie ist daher untrennbar verbunden mit der Toxikologie einiger typischer Ausgangs- und Zwischenprodukte, der aromatischen Nitro- und Aminoverbindungen. Sie kann hier nur angedeutet werden, ihre wichtigsten Grundzüge sind:

1. Blutgiftwirkungen, a) Cyanose durch Hämiglobinbildung (Neuere Übersicht bei Bodansky), b) Heinzkörperchenbildung, Anämie.
2. Leberschäden/Stoffwechselstörungen, z. B. durch Dinitrophenol.
3. Verursachung allergischer Erkrankungen (R. L. Mayer).
4. Papillome und Carcinome der Harnwege.

Auf die letztgenannten Effekte ist noch zurückzukommen.

Manche technischen Farbstoffe können noch Reste solcher Ausgangschemikalien enthalten, so Wäschestempelfarben, durch deren Anilingehalt seit 70 Jahren immer wieder epidemische Cyanosen in Säuglingsstationen erzeugt werden, weil ihr Mißbrauch zum Stempeln von Säuglingswindeln — sogar mit Ingebrauchnahme der Windeln ohne vorherige Wäsche — unausrottbar zu sein scheint. Gott sei Dank sind diese Vergiftungen, selbst wenn sie schwer sind, fast nie tödlich. Allein aus den letzten 10 Jahren liegen Berichte über solche Ereignisse vor von Lundberg aus Schweden, von MacMath und Apley sowie Pickup u. Eeles aus England, von Rottinghuis u. Mitarb. aus den Niederlanden, von Ritter, Rodeck u. Westhaus aus Deutschland. Ähnliche Gemische wie zum Wäschestempeln dienen zum Lederschwärzen im Haushalt und können Kleinkinder durch Schuhe gefährden, wie kürzlich noch Coignet u. Regnier höchst dramatisch geschildert haben. Auch Ölkreiden mit einem Rotfarbstoff („Para-red") haben noch vor wenigen Jahren in den USA zu Vergiftungen von Kindern mit Cyanose geführt (Rieders u. Brieger). Der Farbstoff wird aus p-Nitranilin hergestellt und enthielt Reste dieses Ausgangsproduktes. — Die Heinzkörperchenbildung hat vielleicht nur eine untergeordnete pathologische Bedeutung, erlaubt aber gelegentlich, die Exposition gegenüber solchen Zwischenprodukten aufzudecken (Hecht u. Wingler).

Im übrigen stellt der Einsatz der organischen Farbstoffe in den erzeugenden und verarbeitenden Betrieben in toxikologischer Hinsicht fast nur ein dermatologisches Problem dar (Blum u. Smagghe). Auch hier ist die Gefährdung beinahe ausnahmslos größer, wenn nicht der chemisch fertiggestellte Farbstoff, sondern reaktionsfähige Zwischenprodukte zum Färben benutzt werden. In schlechter Erinnerung ist die

Entwicklung von schwarzen Färbungen durch Oxydation von p-Phenylendiamin auf Pelzwerk oder auf dem Kopfhaar selbst als Ursache vieler Hauterkrankungen und Asthmaerkrankungen. Mit diesem Krankheitsbild und dem Zusammenhang zwischen der chemischen Konstitution und der Auslösung allergischer Dermatosen hat sich R. L. Mayer in langjährigen klinischen und tierexperimentellen Studien beschäftigt (Mayer 1928, Baer u. Mitarb., Mayer 1949, Mayer 1954, Nitti u. Mitarb.).

Man erwartet, daß gefärbte Kleidungsstücke nicht im Gebrauch an die menschliche Haut abfärben und die Färbungen somit keine Hautschädigungen auslösen können. Diese Erwartung ist nicht immer erfüllt; herkömmliche Färbungen können bei neuartigem Fasermaterial mißlingen, so daß die Farbstoffe in die Haut eindringen und dort Dermatosen hervorrufen. Dadurch kann das neue Fasermaterial, kaum mit Recht, in Verruf kommen („Nylon-Dermatitis"). Interessanterweise sind zum Teil wiederum Farbstoffe beteiligt gewesen, die im Sinne Mayers mit p-Phenylendiamin verwandt sind (Calnan, Calnan u. Wilson, Fleming, Friedrich, Koch u. Hussong, Koller, Schmitz u. Wagner, Schmitz u. Riedel, Schulz u. Herrmann).

Die Verwendung von Farbstoffen in der Kosmetik, insbesondere die außerordentliche Verbreitung des Lippenstiftes, scheint recht selten zu dermatologischen Folgen zu führen, die den Farbstoffen zur Last zu legen sind (Friedrich). Für Lippenstifte werden vorwiegend Farbstoffe aus der Reihe des Eosin verwendet (vgl. Deshusses u. Desbaumes, Friedrich, Ruther u. Friedrich).

Damit ist bereits die Verwendung von Farbstoffen außerhalb des eigentlichen Gebietes technischer Färbungen gestreift und diese Verwendung ganz geringer Bruchteile der gesamten Erzeugung zu Sonderzwecken begründet es erst, daß man ihrer Toxikologie ein besonderes Interesse zuwendet. Solche Sonderzwecke sind die Lebensmittelfärbung, die kosmetische Anwendung sowie die Benutzung in der Medizin zur Therapie und auch zur Diagnose, soweit die Farbstoffe dabei dem Körper einverleibt werden.

In die Therapie sind synthetische organische Textilfarbstoffe durch Ehrlich eingeführt worden; er hat zudem den Anstoß gegeben, für therapeutische, z. B. chemotherapeutische Zwecke in Abwandlung der Textilfarbstoffe besondere Verbindungen zu entwickeln. Trypanrot, Trypanblau, Trypaflavin sind frühe Beispiele dieser Art. Für die spätere Zeit sind vielleicht Mercurochrom, Pyridium, Atebrin, Prontosil zu nennen, deren chemotherapeutischen Wirkungen hier natürlich unbesprochen bleiben. In den letzten Jahrzehnten hat das Kristallviolett als Oxyurenmittel eine breite Anwendung gefunden, heute scheint es vom Piperazin abgelöst zu sein.

Es lohnt sich, die Therapie mit Farbstoffen außerhalb der Chemotherapie der Infektionskrankheiten kurz zu betrachten, weil sie an einige, auch für die Toxikologie wichtige Wirkungsmechanismen von Farbstoffen erinnert.

1. Die Therapie der Hämiglobinämie mit Methylenblau oder Thionin. Hier spielt die reversible Reduzierbarkeit der Farbstoffe eine „katalytische" (Katalysin) Rolle für die Reduktion des Hämiglobins (Hauschild). Viele Farbstoffe sind reversibel reduzierbar (oder oxydierbar), auf die Bedeutung des Redoxpotentials wird verwiesen. Redoxfarbstoffe wie Methylenblau können hinsichtlich gewisser Teileffekte das Tocopherol in der Rattendiät vertreten (Moore u. Mitarb.). Damit hängt vielleicht zusammen, daß sie die durch Hämatin katalysierte Oxydation von Lebertran hemmen (Maier u. Tappel).

2. Die gelegentlich des Einsatzes des Indicators Phenolphthalein zur Weinkennzeichnung aufgefundene Abführwirkung ist hinreichend bekannt. Erst neuerdings stellte sich heraus, daß einige in USA und anderen Ländern zu Lebensmittelfärbezwecken benutzte Monoazofarbstoffe, z. B. Tropäolin und ähnliche, recht energische Abführwirkungen besitzen (Vos, Radomski u. Deichmann).

3. Die Behandlungen von Blutungen mit Toluidinblau und der dabei entscheidende Wirkungsmechanismus wurde schon erwähnt.

4. Die Wundbehandlung mit Scharlachrot-Salben, von der eine verstärkte Epithelisierung erwartet wird.

Eine weitere Quelle für Erkenntnisse über das biologische Verhalten von organischen Farbstoffen ist ihre Benutzung in der Diagnostik, die sich einer Reihe von Methoden bedient, bei denen Farbstoffe auf verschiedenen Wegen einverleibt werden. Beispiele dafür sind:

1. Die Blut-(Plasma)-Volumbestimmung. Es gibt saure Disazofarbstoffe, die aus der Blutbahn mit der geringen Geschwindigkeit von etwa 10% pro Stunde eliminiert werden (Trypanrot, Evansblau). Dabei spielt ihre Bindung an die Plasmaalbumine eine Rolle. Sie werden auch nicht ausgeschieden, sondern im Reticuloendothel gespeichert. Auf Evansblau wird bei der Erörterung cancerogener Effekte zurückzukommen sein.

2. Von den Ausscheidungsorganen Leber und Niere wird eine ganze Anzahl von Farbstoffen ausgeschieden. Sie können damit diagnostisch wertvolle Hinweise über das Funktionieren dieser Organe vermitteln (Methylenblau, Indigokarmin u. a.). Das Phenolrot hat in der Geschichte der Nierenphysiologie eine wichtige Rolle gespielt; es war der erste Stoff, dessen Ausscheidungsweg als tubuläre Sekretion erkannt wurde. Vielfach gehen bei Farbstoffen Harnfähigkeit und Gallenfähigkeit nebeneinander her. Für die Leberfunktionsprüfung sind solche Farbstoffe wertvoll, die, wie Bromsulphalein und Azorubin nur gallenfähig sind. Über die

Voraussetzung in der chemischen Konstitution, die über die Ausscheidung in Harn oder Galle hinein entscheiden, haben Studien gerade mit organischen Farbstoffen interessante Einblicke ergeben (Hecht, Matsuo). Viele Farbstoffe werden im Blut von den Eiweißkörpern gebunden und können bei Albuminurie mit diesen im Harn auftreten (Bennhold). Kolloidal lösliche saure Farbstoffe werden im Reticuloendothel gespeichert (Schulemann). Kongorot weist eine besondere Affinität zu Amyloid auf (Bennhold).

3. Farbstoffe, die Fluorescenz aufweisen, sind für andere diagnostische Untersuchungen in Verwendung, so Fluorescein für die Erkennung von Epitheldefekten der Cornea, für die Bestimmung der Kreislaufzeit und für die Erkennung von Hirntumoren. Für den letztgenannten Zweck werden außerdem basische Fluorescenzfarbstoffe benutzt. Burch hat über Hemmung von Leberesterase durch Fluorescenzfarbstoffe wie Rhodamin B berichtet.

Einige weitere beachtenswerte Wirkungen, die bei Farbstoffen beobachtet sind, praktisch jedoch geringere Bedeutung haben, sind die Gerinnungshemmung durch saure Disazofarbstoffe, am stärksten ausgesprochen bei Benzoechtrosa (Kahlson u. Landby), und die Photosensibilisierung durch einige Farbstoffe der Eosingruppe. Dieser Effekt ist allerdings viel weniger ausgesprochen als bei Naturfarbstoffen wie Porphyrinen oder Hypericin.

Nach diesen kurzen Andeutungen über die vielseitigen pharmakologischen Wirkungsweisen von organischen Farbstoffen soll nun erörtert werden, warum der im Titel dieses Vortrages gestellten Frage eine darüber hinaus gehende und allgemein interessierende Bedeutung zukommt. Dies ist auf zwei Umstände zurückzuführen.

1. Organische Farbstoffe werden zur Lebensmittelfärbung herangezogen.

2. Organische Farbstoffe sind unter den krebserzeugenden Giften vertreten.

Der erstgenannte Umstand erfordert es, neben den anderen toxischen Wirkungen cancerogene Effekte von Farbstoffen genauestens zu prüfen. Eine gewisse Beziehung zu diesen Wirkungen haben auch Beobachtungen über Einfluß von Farbstoffen auf Kernteilungsvorgänge (Druckrey, Danneberg u. Schmähl).

Die Quellen, aus denen sich die Erörterungen über die cancerogenen Wirkungen von Farbstoffen herleiten, sind verschiedenartig. Man kann folgende Ausgangspunkte unterscheiden:

1. Das Blasencarcinom der Anilinarbeiter (Rehn 1895). Dieses ist ätiologisch kaum auf Anilin, sondern auf einige andere aromatische Aminoverbindungen zurückzuführen, die als Zwischenprodukte bei der Herstellung von Farbstoffen in großem Umfange verarbeitet worden

sind. (Case u. Mitarb., Wingler dort auch weitere Literaturangaben.) Der Umgang mit Farbstoff-Fertigprodukten ist dagegen sowohl in den Erzeugerwerken als auch in den verarbeitenden Betrieben im allgemeinen nicht mit Beobachtungen von Berufskrebsen belastet, Ausnahmen sind Angaben über Blasentumoren in englischen Fuchsin und Auramin erzeugenden Betrieben (Case u. Pearson). (Touraine hat kürzlich angegeben, daß in einer Farbstoff-Fabrik 10 Fälle von Hautkrebs aufgetreten seien. Diese Angabe muß bezweifelt werden. Berufliche Hautkrebse durch Umgang mit Farbstoffen sind unbekannt.)

2. Die Beobachtung über vermehrtes Hautepithelwachstum unter dem Einfluß von Scharlachrot (Fischer-Wasels 1906), einem fettlöslichen Azofarbstoff, die viele weitere Untersuchungen in dieser Reihe veranlaßte. Dabei ergab sich später tierexperimentell, daß solche Stoffe Hepatome zu erzeugen vermögen (M. B. Schmidt 1924). Von den weiteren Erkenntnissen, welche die Bearbeitung dieses Gebietes zutage förderte, hat den größten Widerhall die Beobachtung gefunden, daß Dimethylaminoazobenzol bei Verfütterung an Ratten Lebercarcinome erzeugt (Kinosita 1936), da dieses Chemikal zur Färbung von Nahrungsfetten weit verbreitet gewesen ist.

3. Nicht nach Verfütterung, dagegen nach über lange Zeit durchgeführten subcutanen Injektionen des sauren Triphenylmethanfarbstoffes Lichtgrün SF entwickeln sich bei Ratten lokal Sarkome (Schiller 1937). Auch Lichtgrün SF hat als Lebensmittelfarbstoff Anwendung gefunden.

Das „Anilinarbeiter"-Blasencarcinom ist eine menschliche Erkrankung, die gehäuft in Betrieben aufgetreten ist, in denen in erster Linie β-Naphthylamin und Benzidin hergestellt und verarbeitet wurden und in der Luft der Arbeitsräume in Dampf- oder Staubform auftraten. So kamen die Beschäftigten in engen Kontakt mit diesen Chemikalien. Ein Maß für ihre Resorption ist das Auftreten dieser Amine im Harn. Ihre gewerbetoxikologische Rolle und die Bekämpfung der durch sie repräsentierten Gefährdung wird hier nicht besprochen. Für den Zusammenhang mit der Lebensmittelfärbung sind zwei Dinge von Bedeutung.

1. Sie können in technischen Farbstoffen als Verunreinigungen noch enthalten sein. Man hat daher schon seit langem für die Lebensmittelfärbung nicht die technischen Produkte, sondern besonders rein hergestellte Farbstoffe verwendet.

2. Azofarbstoffe können im biologischem Milieu in der Azogruppe reduziert werden und dabei in zwei aromatische Amine zerfallen (vgl. Eisenbrand u. Klauck, Mecke u. Schmähl). Das Ausmaß dieser Reduktion ist im Einzelfall schwer zu übersehen. Es erscheint daher zweckmäßig, solche Azofarbstoffe, bei deren Reduktion aromatische Amine mit bekannter oder vermuteter cancerogener Wirkung entstehen

könnten, von der Lebensmittelfärbung auszuschließen. Da für viele Amine, wie z. B. das Anilin, kaum eine Entscheidung gefällt werden kann, ob sie für Menschen in dieser Beziehung gefährlich sind, ist es zweckmäßiger, überhaupt solche Azofarbstoffe auszuschalten, die zur Bildung von Aminen führen können (Hecht u. Wingler).

Die Reduktion kann bereits im Lebensmittel, jedenfalls aber im Darminhalt einsetzen. Man kann sich daher nicht darauf verlassen, daß als solche offensichtlich nicht resorbierbare Farbstoffe nicht doch zur Resorption von aromatischen Aminen führen können. Wie schon erwähnt, können derartige Amine unter anderem die Bildung von Heinzkörperchen veranlassen. Man hat vorgeschlagen, auf diesem Umwege die Aufnahme subtoxischer Mengen von aromatischen Aminen nach Verabreichung von Azofarbstoffen zu beurteilen (Hecht u. Wingler). Das darf nicht in dem Sinne mißverstanden werden, daß man auf diese Weise einen vereinfachten Test zur Beurteilung der cancerogenen Eigenschaften von Farbstoffen in der Hand habe.

Da die Reduktion der Azogruppe stets zum Auftreten aromatischer Aminogruppen führt, würde die besprochene Eigentümlichkeit der Azofarbstoffe diese allgemein als bedenklich erscheinen lassen, wenn nicht erfahrungsgemäß Sulfosäurederivate aromatischer Amine ganz bedeutend weniger toxisch sind als die nicht sulfonierten Körper, dies gilt auch bezüglich der cancerogenen Effekte. In Konsequenz dessen dürfen solche Azofarbstoffe, die nach Reduktion der Azogruppe in beiden Spaltstücken Sulfogruppen tragen, als weniger bedenklich angesehen werden als andere, bei denen das nicht der Fall ist.

Die Bedenken gegen die aromatischen Amine als Verunreinigungen oder Spaltstücke von Lebensmittelfarbstoffen sind von der Erkenntnis ihrer ätiologischen Rolle bei menschlichen Blasencarcinomen ausgegangen. Ihre cancerogenen Eigenschaften sind im Tierversuch nicht immer leicht demonstrierbar, doch hat das Tierexperiment den Kreis der belasteten Amine um einige eindrucksvolle, cancerogen hochwirksame Gifte erweitert, z. B. Acetylaminofluoren und 4-Aminodiphenyl (Walpole u. Mitarb.).

Die beiden anderen Quellen der Bedenken gegen Farbstoffe als Cancerogene gehen nicht von Erfahrungen am Menschen, sondern von Beobachtungen am Versuchstier aus. Bei ihnen stehen nicht Verunreinigungen oder Zersetzungsprodukte der Farbstoffe im Vordergrund, sondern die Verbindungen als solche. In diesem Zusammenhang verdient die Rolle des Tierexperimentes eine besondere Beachtung. Die Reaktion auf cancerogene Stoffe ist von Tierart zu Tierart verschieden, und es ist unrealistisch, aus Tierexperimenten einen strengen Beweis für das Fehlen cancerogener Wirksamkeit irgendwelcher Gifte beim Menschen zu erwarten. Da aber für die nun zu besprechenden Farbstoffe die

Besorgnisse über die Folgen ihrer Einwirkung auf den Menschen aus Beobachtungen am Versuchstier hergeleitet sind, so kann auf der anderen Seite das Ausbleiben cancerogener Effekte im Tierversuch bei anderen Farbstoffen unter den gleichen Versuchsbedingungen, oder besser bei noch verstärkter Belastung, solche Besorgnisse wirksam entkräften.

Das als Buttergelb früher viel benutzte Dimethylaminoazobenzol ist im Tierversuch cancerogen und führt insbesondere bei Verfütterung an Ratten zu Lebercarcinomen. Sehr viele Bemühungen sind darauf gerichtet gewesen, den Wirkungsmechanismus dieses Effektes und den Zusammenhang mit seiner chemischen Konstitution aufzuklären. Er kann nicht auf die beiden aromatischen Amine zurückgeführt werden, die bei der reduktiven Spaltung der Azogruppe entstehen. Er wird durch einige Substitutionen am Molekül noch verstärkt. Diese Derivate sind aber speziell für solche Vergleichsuntersuchungen hergestellt worden und haben in der Praxis als Farbstoffe, insbesondere in der Lebensmittelfärbung, niemals eine Rolle gespielt. Durch andere Substitutionen wird die Wirksamkeit abgeschwächt oder ganz beseitigt. (Bezüglich der Einzelheiten wird auf eine neuere zusammenfassende Darstellung von Butenandt u. Danneberg verwiesen.) Sicherlich handelt es sich nicht um eine allen fettlöslichen Farbstoffen gemeinsame Wirkung. Wenn man heute trotzdem selbst auf die letzten Vertreter dieser Gruppe in der Lebensmittelfärbung verzichtet, so geschieht dies, wie bereits erwähnt, weil sie entweder anderweitige toxische Wirkungen, z. B. Abführwirkungen, gezeigt haben, oder weil sie bei der Reduktion cancerogenverdächtige Amine liefern könnten.

In der Reihe der fettlöslichen Monoazofarbstoffe ist die Hepatomerzeugende Wirkung weiter bei einigen Vertretern der „Sudane" aufgefunden worden, bei anderen ist sie auch bei sorgfältiger Untersuchung seitens verschiedener Autoren nicht nachweisbar gewesen. Einzelheiten über diese und die weiter besprochenen Untersuchungen über Lebensmittelfarbstoffe sind der Mitteilung 6 der Farbstoff-Kommission der Deutschen Forschungsgemeinschaft zu entnehmen, dort finden sich auch die Literaturangaben.

In der Reihe der wasserlöslichen, d. h. sulfonierten Farbstoffe, ist eine Lebercarcinom-erzeugende Wirksamkeit im Tierversuch nicht bekannt, weder soweit es sich um Azofarbstoffe handelt, noch außerhalb der Azofarbstoffreihe. Diese wasserlöslichen Farbstoffe werden im allgemeinen vom Darminhalt aus nur sehr mangelhaft resorbiert. Das ist leicht daran erkenntlich, daß sie nach Verfütterung weder zu Vitalfärbung noch zur Färbung des Harnes führen, während mit Injektionen diese Färbungen leicht zu erzielen sind.

Auch andere cancerogene Wirkungen sind bei Verfütterung dieser wasserlöslichen Farbstoffe bisher nicht beobachtet worden, obwohl eine

ganze Reihe von gründlichen Untersuchungen in dieser Richtung vorliegt, bei denen übrigens gewisse anderweitige toxische Effekte, insbesondere Abführwirkungen, aufgedeckt wurden.

Nachdem aber bekannt geworden ist, daß bei der parenteralen Verabreichung einiger wasserlöslicher Farbstoffe dieser Gruppe gewisse cancerogene Effekte auftreten, die mit Verfütterung nicht zu erreichen sind, ist es erforderlich, auch diese Resultate zu erörtern. Die ursprüngliche Beobachtung über die Möglichkeit durch wiederholte Injektionen von Lichtgrün SF gelblich lokale Sarkome zu erzeugen, ist von mehreren Seiten bestätigt und zum Teil auf einige dem Lichtgrün chemisch nahe verwandte Stoffe ausgedehnt worden. Im Falle des Lichtgrün hat man sich auch mit Erfolg bemüht, auszuschließen, daß die Wirkung durch Verunreinigungen hervorgerufen wird. Ähnliche Effekte wie Lichtgrün, sogar mit kleinerer Dosierung, habe ich mit Schwarz 5410, Thiazinbraun und Nigrosin beobachtet.

Ausschließlich bei Injektionen zeigen einige andere Farbstoffe cancerogene Wirkungen, die aber von denen der eben genannten abweichen. Es handelt sich um Beobachtungen mit Trypanblau und Evansblau, zwei Farbstoffen, die in der Lebensmittelfärbung keine Rolle spielen, dagegen medizinische Verwendung finden (Gillman u. Gillman, Marshall). Sie erzeugen Sarkome, die von reticuloendothelialen Elementen ausgehen. Der Gedanke liegt nahe, daß sie diejenigen Zellen schädigen, von denen sie erfahrungsgemäß gespeichert werden, und daß ihr Effekt mit der Reduktion zu Tolidin zusammenhängen könnte.

Wie weit diese bei der Injektion von Farbstoffen beobachteten Effekte auf eine Gefährdung des Menschen bei ihrer Verwendung zur Lebensmittelfärbung hindeuten, ist eine offene Frage. Solange sie nicht zu klären ist, wird man sich sicherer fühlen, wenn sie nicht zur Lebensmittelfärbung herangezogen werden.

Unter Berücksichtigung der besprochenen toxikologischen Beobachtungen mit Einschluß der Prüfung der cancerogenen Effekte bemüht man sich nun an verschiedenen Stellen der Welt, diejenigen Farbstoffe auszuwählen, gegen deren Verwendung zur Lebensmittelfärbung bei dem Stande der Erkenntnis keine begründeten Bedenken vorliegen. Es ist konsequent, daß man bei diesen Bemühungen an die toxikologische Prüfung der Naturfarbstoffe die gleichen Ansprüche stellt wie an die der synthetischen. Im Rahmen dieser Abhandlung bleiben jedoch die Naturfarbstoffe unbesprochen.

Die Farbstoff-Kommission der Deutschen Forschungsgemeinschaft hat sich seit ihrer Gründung im Jahre 1949 mit der Zusammenstellung einer solchen Liste befaßt und sie laufend überarbeitet. Aus der Mitteilung 9 dieser Kommission sind hier nur diejenigen synthetischen

Farbstoffe wiedergegeben, die als unbedenklich zur Lebensmittelfärbung angesehen werden.

Die Verwendung von Farbstoffen zu kosmetischen Zwecken ist von der Farbstoff-Kommission der Deutschen Forschungsgemeinschaft ebenfalls behandelt worden; die als geeignet betrachteten Farbstoffe sind in der Mitteilung 3 vom 1. 10. 1952 zusammengestellt.

Tabelle

	Mittlg. 6 Nr.	Schulz Nr.	Col. Ind. Nr.
1. Echtgelb extra . .	23	172	16
2. Tartrazin	64	737	640
3. Chinolingelb	97	918	801
4. Chrysoin S	26	186	148
5. Gelb 27 175 N . . .	30	—	—
6. Orange GGN . . .	32	—	—
7. Gelborange S . . .	29	—	—
8. Azorubin	38	208	179
9. Echtrot E	39	210	182
10. Amaranth	40	212	184
11. Cochenillerot A . .	41	213	185
12. Ponceau 6R . . .	42	215	186
13. Scharlach GN . . .	34	—	—
14. Indanthrenblau RS	104	1228	1106
15. Indigotin I	105	1309	1180
16. Brillantschwarz BN	58	—	—
17. Erythrosin bläul. .	93	887	773

Cancerogenen Effekten wird insofern ein höherer Rang von Gefährdung zugeschrieben als anderen toxischen Wirkungen, als viele Beobachtungen für das Fehlen der Reversibilität von unterschwelligen Teileffekten und eine verlustlose Summation derselben sprechen. Es sei hier auf die diesbezügliche Diskussion über die Strahlenwirkungen verwiesen, eine kritische Erörterung ist an dieser Stelle nicht möglich. Nach Untersuchungen mit Buttergelb hat Druckrey die Irreversibilität der Wirkung cancerogener Stoffe ganz besonders hervorgehoben (Druckrey, Druckrey u. Küpfmüller). Man wird diesen Gesichtspunkt bei der Bewertung der Gesundheitsgefährdung durch Farbstoffe in Rechnung stellen.

Er berührt sich mit der Frage, in welcher Weise sich cancerogene Einflüsse verschiedener Art und verschiedener zeitlicher Kombination an demselben Organismus auswirken können. Es liegt nahe, additive Effekte zu erwarten und solche sind auch bei Versuchen mit cancerogenen Farbstoffen beschrieben, zuerst 1906 von Fischer-Wasels bei Kombination mit Arsen (Literatur und weitere Einzelheiten bei Domagk).

Experimentell sind aber auch Antagonismen verschiedener gleichzeitig verabreichter Cancerogene beschrieben, z. B. ein solcher von

Trypanblau-Injektionen (Iwase u. Fujita, Sayama u. Mitarb.) oder bestimmter Azofarbstoffe (Crabtree) in der Kost gegenüber der hepatomerzeugenden Wirkung von Dimethylaminoazobenzol.

Zu zwei Farbstoffen sind noch weitere bemerkenswerte experimentelle Beobachtungen erwähnenswert. Trypanblau entfaltet neben seiner cancerogenen Wirkung eine teratogene, die auch von Gillman u. Mitarb. aufgefunden wurde. Sie tritt besonders dann auf, wenn trächtige Mäuse- oder Rattenweibchen in der ersten Hälfte der Schwangerschaft mit Injektionen behandelt wurden. Es kommt zu Schwanzmißbildungen und Schädeldefekten (vgl. auch Gilbert u. Gillman, Gillman u. Mitarb., Hamburgh, Katsussuma u. Murakami, Waddington u. Carter). Aus Studien von Wilson geht hervor, daß der Effekt auch mit Evansblau in geringerem Maße erzielt werden kann: bei anderen nahe verwandten Vitalfarbstoffen fehlt er. Janusgrün, bei dem Nieper u. Druckrey keine cancerogene Wirksamkeit nachweisen konnten, zeigt eigenartige Effekte auf Zellteilungsvorgänge (Güttes u. Schmähl) und erzeugt, vielleicht in Zusammenhang damit, Mißbildungen bei Hühnerembryonen (Braun); nach Bielka steigert es außerdem die durch cancerogene Kohlenwasserstoffe erzielte Ausbeute an Hauttumoren.

Literatur

Baer, R. L., M. Leider and R. L. Mayer: Proc. Soc. Exper. Biol. a. Med. **67**, 489 (1948). — Bielka, H.: Naturwissenschaften **42**, 299 (1955). — Blum, P., et G. Smagghe: Bull. Soc. franç. Dermat. Nr. 2 bis 1955, 110—111. — O. Bodansky: Pharmacol. Rev. **3**, 144—196 (1951). — Braun, S.: Acta morph. (Budapest) **4**, 61—79 (1954). — Burch, J.: Biochemic. J. **58**, 415 (1954); **59**, 97—110 (1955). — Butenandt, A., u. H. Danneberg: Handb. d. allg. Pathol. **6**, Tl. 3 (1956). — Calnan, C. D.: Lyon Méd. **87** (44) 367—370 (1955). — Calnan, C. D., and H. Wilson: Brit. Med. J. **1956**, 147—149. — Case, R. A., M. E. Hosker, D. B. McDonald and J. T. Pearson: Brit. J. Industr. Med. **11**, 75—104 (1954). — Case, R. A., and J. T. Pearson: Brit. J. Industr. Med. **11**, 213—216 (1954). — Coignet et Regnier: Marseille Médical **91** (8), 575—576 (1954). — Crabtree, H. G.: Brit. J. Canc. **9**, 310—319 (1955). — Deshusses, J., u. P. Desbaumes: Mitt. Gebiet Lebensmittelunters. u. Hygiene (Bern) **44**, 500—507 (1953). — Domagk, G.: in Handb. d. allg. Pathol. Bd. **6**, Tl. 3, Berlin-Göttingen-Heidelberg 1956. — Druckrey, H., P. Danneberg u. D. Schmähl: Arzneimittelforsch. **3**, 151 (1953). — Druckrey, H.: Die Grundlagen der Krebsentstehung, Berlin-Göttingen-Heidelberg 1954. — Druckrey, H., u. K. Küpfmüller: Aulendorf, Ed. Cantor 1949. — Eisenbrand, J., u. A. Klauck: Arzneimittelforsch. **5**, 13—17 (1955). — Farbstoff-Kommission d. Dtsch. Forschungsgemeinsch., Mitteilungen 6 und 9. Erhältlich bei d. Dtsch. Forschungsgemeinsch., Bad Godesberg, Am Frankengraben 40. — Fleming, A. J.: J. Invest. Dermat. **10**, 281—291 (1948). — Friedrich, H. C., u. H. Ruther: J. f. med. Kosmetik **1954**, 73. — Friedrich, H. C.: in Gottron-Schönfeld: Dermatologie Bd. II (Stuttgart 1957). — Führer, H., in Heffter's Handb. der exper. Pharmakologie **I**, 1199—1296 Berlin 1923. — Gilbert, C., and J. Gillmann: S. Afric. J. Med. Sci. **19** (4), 147—154 (1954). — Gillman, J., Ch. Gilbert, Th. Gillman and J. Spence: S. Afric. J. Med. Sci. **13**, 17 (1948). — Gillman, J., and Th. Gillman: Cancer (N. Y.) **5**, 812 (1952). — Güttes, E., u. D.

Schmähl: Arzneimittelforsch. **4**, 479 (1954). — Hambourgh, M.: Nature (Lond.) **169**, 27 (1952). — Hauschild, F.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **184**, 458—467 (1937). — Hecht, G.: Klin. Wschr. **1934**, 1596. — Hecht, G., u. A. Wingler: Arzneimittelforsch. **2**, 192—196 (1952). — Iwase, S., and K. Fujita: Gann **46** (2—3) 352—354 (1955). — Nature (Lond.) **175**, 552 (1955). — Gann **45**, 383—386 (1954). — Kahlson, G., u. E. Landby: Skand. Arch. Physiol. (Berl. u. Lpz.) **77**, 301—311 (1937). — Katsunuma, S., et U. Murakami: C. r. Soc. Biol. (Paris) **148**, 1309—1310 (1954). — Koch, F., u. J. Hussong: Z. Hautkrkh. **19**, 170—175 (1955). — Koller, E.: Schweiz. Vereinigg. Färbereifachleute **7**, 343 (1952). — Lundberg, A.: Acta paediatr. (Uppsala) **43**, 83—86 (1954). — Maier, V. P., and A. L. Tappel: Nature (Lond.) **175**, 951—952 (1955). — Marshall, A. H. E.: Acta path. scand. (Copenh.) **33**, 1—9 (1953). — McMath, J. F., and J. Apley: Lancet **1954**, 985—986. — Matsuo, J.: Biologische Untersuchungen über Farbstoffe, 2 Bände, Kyoto 1935. — Mayer, R. L.: J. Allergy **20**, 159 (1949). — Progress in Allergy **4**, 79—172 (1954). — Klin. Wschr. **1928**, 1959. — Mecke, R., u. D. Schmähl: Arzneimittelforsch. **7**, 335—340 (1957). — Moore, T., J. M. Sharman and R. J. Ward: Biochemic. J. **53** (1953); **54** (1953); **58** (1954). — Nieper, H. A., u. H. Druckrey: Experientia (Basel) **1957**, 40. — Nitti, F., D. Bovet et F. Depierre: Revue d'Immunol. **3**, 376 (1937). — Pickup, J. D., and J. Eeles: Lancet **1953**, 118. — Radomski, J. L., and Wh. B. Deichmann: J. Pharmacol. a. Exper. Ther. **118**, 322—327 (1956). — Rieders, F., and H. Brieger: J. Amer. Med. Assoc. **1953**, 1490. — Ritter, H.: Mschr. Kindheilk. **96**, 319—322 (1949). — Rodeck, H., u. H. Westhaus: Arch. Kindheilk. **145**, 78—90 (1952). — Rottinhuis, H., G. A. Fehmers u. Th. Strengers: Neederl. Tijdschr. Geneesk. **1947**, 2125—2129. — Ruther, R., u. H. E. Friedrich: Dtsch. med. Wschr. **1953**, 1370—1372. — Sayama, Y., T. Miyaji, J. Taki, K. Wakai, F. Nemura and S. Azima: Gann **45**, 386—388 (1954). — Schiller, W.: Amer. J. Cancer **31**, 486 (1937). — Schmitz, R., u. W. Wagner: Medizinische **1955**, 349—351. — Schmitz, R., u. G. Riedel: Medizinische **1953**, 1—8. — Schulz, K. H., u. W. P. Herrmann: Hautarzt **7**, 313 (1956). — Touraine, A.: Berufsdermatosen **5**, 49—70 (1957). Vos, B. J. et al.: Federat. Proc. **12**, 376 (1953). — Waddington, C. H., and T. C. Carter: Nature (Lond.) **169**, 27—28 (1952). — Walpole, A. L., M. H. C. Williams and D. C. Roberts: Brit. J. Industr. Med. **9**, 255 (1952). — Walpole, A. L., M. H. C. Williams and D. C. Roberts: Brit. J. Industr. Med. **11**, 105 (1954). — Wilson, J. G.: Anat. Rec. **123**, (3) 313—333 (1955). — Winglfr, A.: Arzneim.-Forsch. **7**, 391 (1957).

H. Oettel (Ludwigshafen): Gesundheitsgefährdung durch Kunststoffe?

Mit 9 Textabbildungen

A. Begriffsbestimmung und Problematik

Der Begriff „Kunststoffe" bezeichnet keineswegs eine fest umrissene Stoffklasse. Im allgemeinen versteht man darunter hochpolymere, durch Voll- oder Teilsynthese gewonnene organische Produkte, die im englischen Sprachgebiet unter dem Namen „Plastics" zusammengefaßt werden (Wandeberg). Eigentlich gehören dazu auch die vollsynthetischen Kautschukarten und die halbsynthetischen oder vollsynthetischen Fasern. Diese hochpolymeren Stoffe werden aber ebenso wie die „Kunstlacke und -leime" häufig nicht zu den „Kunststoffen" gezählt (Stoeck-

HERT). „Kunststoffe" im Sinne dieses Referates sind *halb oder vollsynthetische organische Werkstoffe*, also feste, meist in Wasser praktisch unlösliche Produkte, die in Form von Stücken, Folien, Filmen oder Geweben technische Verwendung finden. Berücksichtigt werden dagegen nicht *wasserlösliche hochpolymere Produkte* wie Polyglykole, Polyvinylpyrrolidon oder Dextran, die in der Medizin ausgedehnte Verwendung finden, ebensowenig wie die medizinisch und technisch benutzten hochpolymeren organischen *Kationen- oder Anionenaustauscher*, selbst wenn sie chemisch recht nahe Beziehungen zu den Kunststoffen aufweisen.

In Erinnerung an Produkte wie Kunsthonig und Kunstseide hört mancher im Wort „Kunststoffe" den Beiklang „Ersatz". Mit dieser Auffassung der Kunststoffe als „unvollkommene Nachahmung von Naturprodukten" verbindet sich bisweilen die Vorstellung, solche „Kunstprodukte" müßten der Gesundheit weniger zuträglich, also giftiger sein als die aus dem natürlichen Lebensraum des Menschen stammenden „Naturprodukte". Denn trotz aller technischen Fortschritte begegnet der moderne Mensch allem Neuen mit größtem, manchmal an Aberglauben grenzendem Mißtrauen, sobald seine Gesundheit betroffen werden könnte.

Zu Beginn dieses Jahrhunderts war *Aluminium* ein neuer *anorganischer „Kunststoff"*, denn in den Jahrtausenden vorher hatte noch niemand in Aluminiumtöpfen kochen können. Gewisse, durch die Aluminiumindustrie bedrohte Kreise behaupteten damals, durch Aluminiumtöpfe werde Krebs erzeugt (BLUMENTHAL), was den Hausfrauen keinen geringen Schrecken einjagte; *damals* war es unmöglich zu beweisen, daß der Gebrauch von Aluminiumtöpfen *keine* ursächliche Bedeutung für den menschlichen Krebs hat. Auf Grund der über 50 Jahre langen Erfahrung mit dem Werkstoff Aluminium können wir *jetzt* sagen, daß nichts *für* seine cancerogene Wirkung spricht. Und da das metallische Aluminium im täglichen Leben inzwischen unentbehrlich geworden ist, spricht heute niemand mehr von seiner einst gefürchteten „Cancerogenität".

Genauso wie dem Aluminium vor über 50 Jahren geht es heute den organischen Kunststoffen. Sie sind sogar in einer viel schlechteren Position als die Aluminiumtöpfe, weil ihre cancerogene Wirkung im Tierexperiment bewiesen sein soll [BAUER (1), DRUCKREY (1)], worauf weiter unten eingegangen wird.

Diese *gefühlsmäßige Aversion* gegen neue chemische Produkte — die allerdings häufig bei neuen pharmazeutischen Präparaten mit umgekehrten Vorzeichen zu versehen ist (!) — hat wohl folgende Begründung: Die Menschheit hat Jahrhunderte oder Jahrtausende Zeit gehabt, die physiologische Wirkung der im täglichen Leben benutzten, unveränderten oder abgewandelten Naturprodukte wie Holz, Leder und Horn,

Gummi, Harze und Lacke, Leinen, Wolle und Seide, oder auch der altehrwürdigen „Kunststoffe" Glas und Porzellan, Papier und Pergament, kennenzulernen. Man erkannte die hautreizenden oder ekzemerregenden Eigenschaften verschiedener wertvoller Hölzer oder Lacke direkt am Menschen. Man mußte bittere Erfahrungen machen über die toxischen Eigenschaften von Bleigefäßen oder auch von Bleifolien, die statt der harmlosen Zinnfolien zum Verpacken von Lebensmitteln benutzt worden waren, während man die Ungefährlichkeit der klassischen Kunststoffe Porzellan, Glas, Papier oder Pergament — sogar für Lebensmittelverpackung — aus Erfahrung kennt.

Diese *Sicherheit* aus *langer Erfahrung* fehlt uns bei den organischen Kunststoffen, die — wie eine interessante Übersicht von Hopff zeigt (Abb. 1) — als typische Kinder des 20. Jahrhunderts, dem „Jahrhundert der Kunststoffe" (v. Wehrenalp u. Saechtling), bezeichnet werden können. Diesen neuen Werkstoffen[1] begegnet man mit einer um so größeren Scheu, als man ihre *chemische Zusammensetzung* schwer zu übersehen vermag und da Kunststoffe obendrein mit einer großen Zahl chemisch oder biologisch mehr oder weniger bekannter *Zusatzstoffe* versehen sein können, deren Toxicität bei den Weichmachern vom Nahrungsmittel Glycerin bis zum hochtoxischen Triorthokresylphosphat, bei den Stabilisatoren vom harmlosen Natriumcarbonat bis zu den höchst suspekten Cadmium- und Bleiverbindungen geht. Außerdem legt man keinen Wert darauf, erst aus Erfahrung klug zu werden, sondern hat das begreifliche Bestreben, etwaige gefährliche biologische Eigenschaften der Kunststoffe von Anfang an zu erkennen, um Gesundheitsschädigungen zu verhüten.

Zum Verständnis ihrer biologischen Wirkung ist es notwendig, sich zunächst einen Überblick über die Chemie der Kunststoffe (Saechtling, Orth) und ihrer Begleitprodukte zu verschaffen.

B. Chemie der Kunststoffe

1. Abgewandelte Naturstoffe. Wie Tab. 1 zeigt, unterscheiden sich etwa die Hälfte aller unter die anfangs gegebene Definition fallenden „Kunststoffe", die abgewandelten Naturstoffe, in ihrer Genese überhaupt nicht von den „natürlichen" Werkstoffen des täglichen Lebens wie Leder, Papier, Pergament oder von vulkanisiertem Kautschuk („Naturgummi"), die ja auch als „durch chemische Eingriffe abgewandelte Naturprodukte" bezeichnet werden müssen, wenn sie auch nicht „Kunststoffe" genannt werden.

Diese abgewandelten Naturstoffe stammen zum Teil — wie Celluloid (seit 1869), Cellulosehydrat (1897) und Galalith (Wz.) (1899) — noch aus dem vorigen Jahrhundert (siehe Abb. 1). Die Menschheit hatte also 50—85 Jahre Zeit, sich davon zu überzeugen, daß der Umgang mit diesen Produkten die Gesundheit nicht beeinträchtigt, obgleich das am längsten bekannte Celluloid sogar 30% eines

[1] Die Zeitschrift „Kunststoffe" (Carl Hauser Zeitschriften GmbH., München) befindet sich aber immerhin schon im 47. Jahrgang!

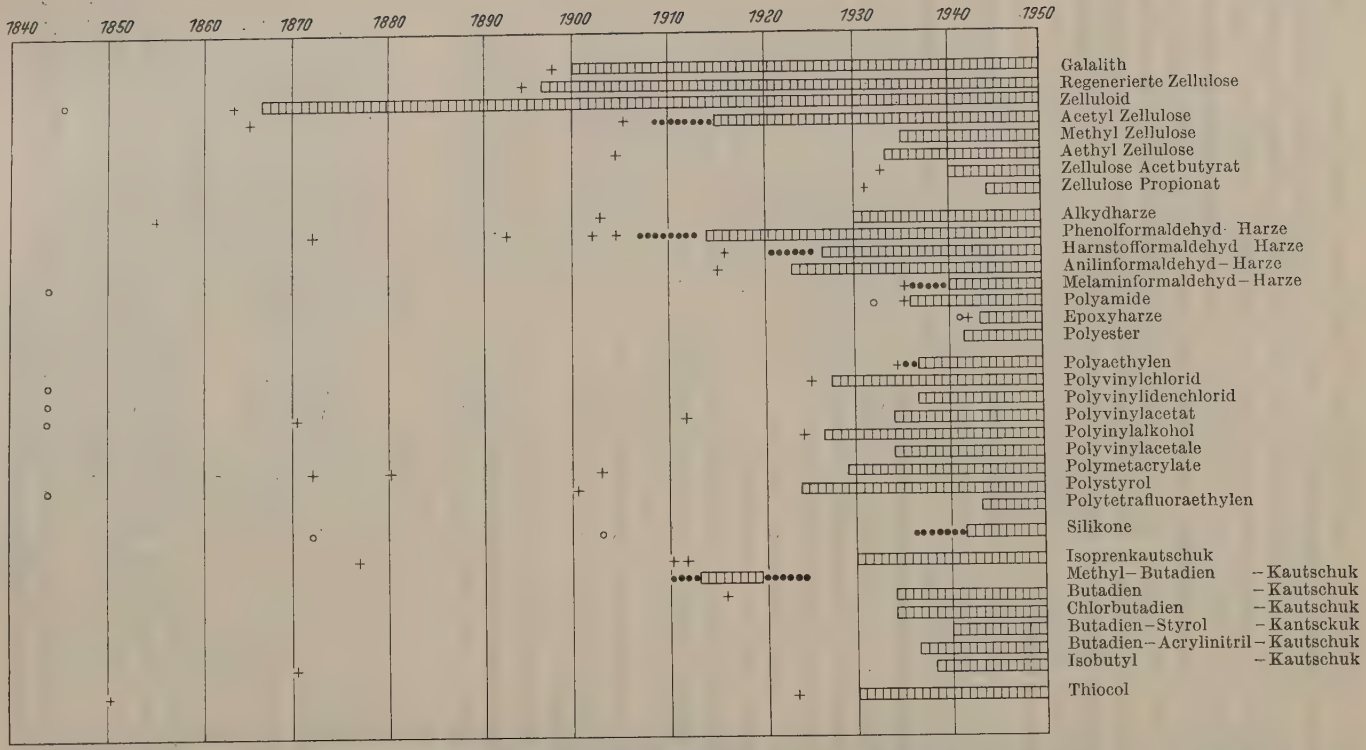


Abb. 1. Entwicklungsschema der Kunststoffe nach H. Hopff (Chem. Ind. 4, 719—725, 1952). ○ = Darstellung der Rohprodukte bzw. der Monomeren; + = Laboratoriumsmäßige Entwicklung; ▭ = Technische Herstellung

Tabelle 1. *Abgewandelte Naturstoffe*[1]

Kautschuk-Derivate	Gummi, Chlorkautschuk, Hydrochlorkautschuk
Cellulose-Derivate	Nitrocellulose = Cellulosenitrat (Celluloid, Zellhorn)
	Cellulosehydrat = Hydratcellulose = regenerierte Cellulose (Vulkanfiber, Cellophan, Kunstseide, Zellglas, Zellwolle)
	Celluloseacetat (Cellon, Cellit)
	Celluloseacetobutyrat und andere Celluloseester und -äther
Weitere Abwandlungen von Naturstoffen	Casein-Formaldehyd (Galalith)
	Zein-Formaldehyd (Vicara-Faser)
	Kolophonium-Umwandlungsprodukte (Laropal)
	Leinöl-Oxydationsprodukte (Linoleum usw.)
	Umwandlungsprodukte natürlicher verharzender Öle (Alkydharze)

[1] Die in Klammern angeführten Namen sind in dieser und den folgenden Tabellen meist Warenzeichen. Sie werden lediglich als Beispiel für die Anwendungsformen einiger Kunststoffarten genannt.

Weichmachers (Kampfer) enthält, der wegen seiner starken biologischen Wirkung (Krampfgift) als Arzneimittel benutzt wird.

2. Vollsynthetische Kunststoffe. Die meisten vollsynthetischen Kunststoffe sind allerdings erst seit einigen Jahrzehnten im Gebrauch (vgl. Abb. 1). Sie werden aus einfachen Bausteinen (Monomeren) durch Polymerisation, durch Polykondensation oder durch Polyaddition hergestellt.

a) Polymerisate. Die wichtigsten Polymerisate entstehen durch Polymerisation von *Vinylverbindungen*, wobei aus $CH_2 = CHX$ Produkte vom Typ $(—CH_2—CHX—)_n$ gebildet werden. Bei der Polymerisation wird die Doppelbindung der Vinylgruppe „aktiviert", womit die Startreaktion zur Bildung langer Ketten gegeben wird. Polyäthylen z. B. kann als $(—CH_2—CH_2—)_n$ bezeichnet werden. Viele Monomere sind so reaktionsfähig, daß ihre sofortige, unerwünschte Autopolymerisation nur durch Anwesenheit von „Inhibitoren" verhindert bzw. gesteuert werden kann.

In den monomeren Vinylverbindungen kann an Stelle von X unter anderem stehen:

Wasserstoff	= Äthylen
Chlor	= Vinylchlorid
COOH oder COOR	= Acrylsäure bzw. Acrylsäureester
OR	= Vinyläther
OOCR	= Vinylester

In einer Reihe von Monomeren ist auch der zweite Wasserstoff des Äthylens durch Chlor (Vinylidenchlorid, $CH_2 = CCl_2$) oder ein Radikal (z. B. in Methacrylsäure) ersetzt.

Bei gleichzeitiger Polymerisation von Monomeren-Gemischen entstehen Mischpolymerisate, wodurch die physikalischen Eigenschaften der Endprodukte in bestimmter Richtung beeinflußt werden können. Die wichtigsten Polymerisate zeigt folgende Tab. 2.

b) Polykondensate. Polykondensate entstehen meist aus *verschiedenartigen* Molekülen unter Abspaltung kleiner Moleküle wie Wasser, Ammoniak oder Salzsäure. Ein typisches Beispiel für Polykondensate sind die Polyester, die aus

Tabelle 2. *Polymerisate*

Polyäthylen (Lupolen)	Polyvinyläther (Oppanol C, Lutonal)
Polyisobutylen (Oppanol B)	Polyvinylalkohol (Polyviol)
Polybutadien und andere Polydiene (Buna, Perbunan, Neoprene)	Polyvinylacetat (PVA, Mowilith, Vinnapas)
Polyvinylbenzol (Polystyrol)	Polyvinylcyanid = Polyacrylnitril (Orlon)
Polyvinylchlorid (PVC, Igelit, Vestolit, Vinnol, Geon)	Polycaprolactam (—CO—$(CH_2)_5$—NH—)$_n$ (Perlon, Ultramid)
Polyvinylidenchlorid (Saran)	Polyfluor(chlor)-olefine (Teflon, Hostaflon)
Polyacrylsäureester(Acronal,Rhoplex)	
Polymethacrylsäureester (Plexiglas, Paladont)	

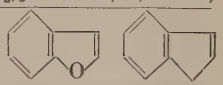
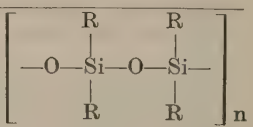
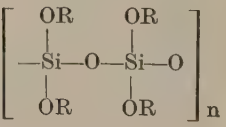
di-basischen Säuren und mehrwertigen Alkoholen sowie die Polyamide, die aus dibasischen Säuren und Diaminen nach folgendem Schema entstehen:

$$HOOC—(CH_2)_6—COO\boxed{H+HO}—(CH_2)_2—\boxed{OH+H}OOC—(CH_2)_6—COO\boxed{H+HO}—(CH_2)_2—OH \quad \text{usw.}$$

$$HOOC—(CH_2)_4—CO\boxed{OH+H}HN—(CH_2)_6—NH\boxed{H+HO}OC—(CH_2)_4—CO\boxed{OH+H}—HN—(CH_2)_6—NH_2 \quad \text{usw.}$$

Weitere Beispiele für Polykondensate zeigt folgende Tabelle:

Tabelle 3. *Polykondensate*

Phenoplaste	Kondensate aus Formaldehyd und Phenolen Ein typisches Konstitutionselement entspricht etwa der Formel (—$C_6H_3(OH)$—CH_2—)$_n$ Phenolformaldehydharze (Bakelit)
Aminoplaste	Kondensate aus Formaldehyd und Harnstoff, Thioharnstoff oder Melamin (Iporka, Kaurit, Urecoll, Plastopal, Resamin, Pollopas, Ultrapas)
Polyester	Kondensate aus Polycarbonsäuren und mehrwertigen Alkoholen (z. B. Maleinsäure-, Adipinsäure-, Phthalsäure-(Poly)Glykole, Terephthalsäure-polyglykole (Terylen)
Polyamide	Kondensate besonders aus Hexamethylendiamin und Adipinsäure (—OC—$(CH_2)_x$—CO—NH—$(CH_2)_y$—NH—)$_n$ (Nylon, Cytel, Ultramid) Polymeres aus ε-Caprolactam (—CO—$(CH_2)_5$—NH—)$_n$ (Perlon)
Cumaron-Indenharze	Polymerisate der aus den Steinkohlenteer-Leichtölen gewonnenen Gemische von Cumaron und Inden 
Silikone	Polysilikone mit „anorganischer" SiO-Kette  Polysilyläther (Äthylsilikat) 

c) Polyaddukte. Eine relativ neue Gruppe von Kunststoffen entsteht durch Polyaddition, d. h. durch Anlagerung meist *verschiedenartiger* Moleküle *ohne* Wasserabspaltung. Praktisch am wichtigsten sind die *Polyurethane*, die durch Anlagerung von Diisocyanaten an mehrwertige Alkohole entstehen. Einige durch Polyaddition gebildete Kunststoffe zeigt folgende Tabelle:

Tabelle 4. *Polyaddukte*

Polyurethane	aus Diisocyanaten und mehrwertigen Alkoholen oder Hydroxylgruppen-haltigen Polyestern (Moltopren, Vulcolan, DD-Reaktionslacke)
Äthylenimin-polymere[1]	Polymin
Äthylenoxyd-polymere[1]	Epoxyharze, Äthoxylinharze, Glycidäther, Araldit, Epicote, Epoxin

[1] In beiden Fällen erfolgt die Bildung der polymeren Moleküle durch Öffnung der Dreierringe.

3. Kunststoffproduktion. Die Weltproduktion an Kunststoffen ist im Laufe dieses Jahrhunderts von 20000 t im Jahre 1900 auf 2800000 t im Jahre 1955 angestiegen. Sie steigt ständig weiter, weil auf Grund ihrer speziellen Eigenschaften immer neue Verwendungsmöglichkeiten für die verschiedenen Kunststofftypen gefunden werden. Einen Eindruck von der praktischen Bedeutung der einzelnen Kunststoffarten geben die Weltproduktionszahlen der Tab. 5 (Gaeth).

Tabelle 5. *Weltkunststofferzeugung 1955* (ohne Fasern)

	Tonnen	%	
Cellulosederivate	115000	4,0	
Alkydharze	475000	17,0	ca. 30%
Phenolharze	370000	13,5	
Harnstoff- und Melaminharze	225000	8,0	
Cumaron-Indenharze	120000	4,5	
Vinylharze (PVC, PVA etc.)	615000	22,0	ca. 50%
Polystyrol	435000	15,5	
Polyäthylen	285000	10,0	
Polyester	45000	1,5	
Polyamide, Polyurethane, Polyfluorkohlenwasserstoffe	115000	4,0	
Gesamtproduktion	2800000 t		

Polyvinylchlorid steht mit etwa 500000 t an der Spitze aller Kunststoffarten und Kunstharze, und die Polyvinylverbindungen: Polyvinylchlorid, Polystyrol und Polyäthylen nehmen etwa die Hälfte der Gesamtkunststoffproduktion der Welt ein.

Sehr viel größer übrigens als die Produktion dieser einzelnen Kunststofftypen ist die der *synthetischen Kautschukarten*, nämlich über 1 Million Tonnen pro Jahr. Obgleich „künstlicher Kautschuk" aus den gleichen Monomeren Butadien, Isobutylen, Styrol und Acrylnitril durch Polymerisation und Mischpolymerisation entsteht, wird er aber nicht in den Statistiken der Kunststoffproduktion geführt.

Auch die synthetischen und halbsynthetischen *Fasern*, die chemisch zu den synthetischen hochpolymeren Produkten gehören, erscheinen nicht in den Statistiken der Kunststoffe. Ihre Gesamtproduktionszahlen (Wenger) werden genannt, um ihre praktische Bedeutung zur Beurteilung etwaiger Gesundheitsgefahren durch solche Hochpolymere würdigen zu können.

Tabelle 6. *Weltproduktion von Kunstfasern 1955*

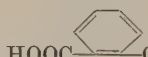
	Tonnen[1]
Cellulosefäden (endlos = „Kunstseide")	1020000
Cellulose-Stapelfasern (geschnitten)[2]	1200000
Synthesefäden und -fasern (davon Polyamidfasern 200000 t)	280000
Gesamtproduktion	2500000

[1] Werte abgerundet.
[2] Zur Verarbeitung wie Wolle oder Baumwolle.

4. Kunststoffzusätze. *a) Weichmacher.* Die Kunststoffrohstoffe werden in den Produktionslisten bisweilen nach ihrem *plastischen* Verhalten bei der Erwärmung in 2 Gruppen eingeteilt: Die bei erhöhter Temperatur erweichenden „*Thermoplaste*" und die „*Duroplaste*", die durch Temperaturerhöhung nicht wieder verformbar gemacht werden können. Bei gleicher Temperatur ist die Plastizität bzw. Flexibilität aller Kunststoffe recht verschieden. Ihre Härte und Sprödigkeit kann durch „Mischpolymerisation" verändert werden, was als „*innere Weichmachung*" bezeichnet wird. So ist z. B. ein Mischpolymerisat aus Acrylestern und Vinylchlorid flexibler als Polyvinylchlorid selbst.

Bei einigen Kunststoffen kann die Flexibilität aber auch dadurch erhöht werden, daß den fertigen Produkten größere Mengen von Stoffen zugesetzt werden, die sich durch Nebenvalenzen an die Makromoleküle anlagern und durch „Solvatation" den Erweichungspunkt bzw. die Viscosität der Hochpolymeren herabsetzen, sogenannte „*äußere Weichmacher*".

Der erste Weichmacher in der Geschichte der Kunststoffe war ein Terpenderivat, der Kampfer im Celluloid. Als Weichmacher für Polyvinylchlorid wurden zunächst Phosphorsäureester benutzt, die bald durch die Di-Ester, besonders der folgenden mehrbasischen Säuren ergänzt wurden:



HOOC—C$_6$H$_4$—COOH	Phthalsäure
HOOC—$(CH_2)_4$—COOH	Adipinsäure
HOOC—$(CH_2)_7$—COOH	Azelainsäure
HOOC—$(CH_2)_8$—COOH	Sebacinsäure

Es sind eine Unzahl von Weichmachern unter den verschiedensten Warenzeichen im Handel (Gnamm, Doolittle, Marsden), von denen in der folgenden Tab. 7 nur die mit einiger praktischer Bedeutung genannt sind.

Nur für *ganz spezielle* Zwecke gebrauchte Weichmacher sind die Anthracenöle (in Kautschuk), chlorierte Paraffine (in Fußbodenbelägen) oder bestimmte Glykolderivate (in Cellulose-Derivaten). Überhaupt haben nur wenige dieser Weichmacher größere Bedeutung (Gaeth): etwa 60% des Gesamtbedarfs der Bundesrepublik wird durch Phthalate, und davon wieder 60% allein durch Äthylhexylphthalat gedeckt (Tab. 8).

Tabelle 7. *Die gebräuchlichsten Weichmacher*

Phosphorsäureester
- Trichloräthylphosphat
- Triphenylphosphat
- Trikresylphosphat
- Trixylenylphosphat

Phthalsäureester
- Dimethylphthalat
- Diäthylphthalat
- Dibutyphthalat
- Diamylphthalat
- Dihexylphthalat
- Di-2-äthylhexylphthalat
- Dioctylphthalat
- Diisooctylphthalat
- Dinonylphthalat
- Diisodecylphthalat
- Dimethylglykolphthalat
- Dibutylglykolphthalat
- Dicyclohexylphthalat
- Dimethylcyclohexylphthalat
- Butylbenzylphthalat
- Di-2-äthylhexyltetrachlorphthalat
- Di-n-butyltetrachlorphthalat
- Di-n-hexyltetrachlorphthalat

Adipinsäureester
- Di-2-äthylhexyladipat
- Dioctyladipat
- Diisooctyladipat
- Dinonyladipat
- Diisodecyladipat
- n-Octyl-n-decyladipat
- Diäthylglykoladipat
- Dipropylglykoladipat
- Polyesteradipat
- Butandiolpolyesteradipat
- Benzylbutyladipat
- Benzyloctyladipat

Sebacinsäureester
- Di-2-äthylhexylsebacat
- Polyestersebacat

Verschiedene Ester und Amide
- Butylstearat
- Butylacetylrizinoleat
- Benzylbenzoat
- 2-Äthylhexyl-p-oxybenzoat
- Phenol-(Kresol)-alkylsulfonate
- Isooctylepoxystearat
- Benzolsulfosäure-n-methylamid

Glykole, Glycerin und Derivate
- Triglykolacetat
- Glyceromonoacetat
- Triacetin (= Triacetat)
- Diglykolbenzoat
- Diglykolsäureester

Chlorierte Paraffine und aromatische Kohlenwasserstoffe
- Chlorierte Paraffine (42—70% Cl)
- Chlorierte Diphenyle

Die erforderlichen Weichmacherarten und -mengen richten sich nach dem jeweiligen Verwendungszweck der Kunststoffe; sie können bis 50% betragen, sie sind also für die Beurteilung der physiologischen Eigenschaften der fertigen Kunststoffgegenstände von besonderer Bedeutung.

Tabelle 8. *Weichmacherproduktion der Deutschen Bundesrepublik 1954*

	Tonnen
Weichmacher auf Phthalsäurebasis	22400
Weichmacher auf Fettsäurebasis .	7500
Trikresylphosphat	3500
Phenol-(Kresol)-alkylsulfonat . .	3500
	36900

Es muß aber betont werden, daß nur *wenige* Kunststoffe — in erster Linie Polyvinylchlorid (PVC) — mit „äußeren Weichmachern" versetzt werden, und auch hier nur für bestimmte Anwendungszwecke (Weichfolien, Schläuche, Kunstleder, Treibriemen); PVC-Hartfolienplatten, -Rohre oder -Fasern sind weichmacherfrei.

Etwa die *Hälfte* der gesamten Weichmacherproduktion wird für *Polyvinylchlorid*, die andere Hälfte etwa zu gleichen Teilen für *Polyvinylacetat* und

Nitrocelluloselacke gebraucht. Für Cellulosehydrat-Folien werden vor allen Dingen Glycerin und verwandte Stoffe benutzt, die in der obigen Statistik nicht erscheinen. Die anderen Kunststoffe enthalten im allgemeinen keine Weichmacher.

b) Stabilisatoren und Acceleratoren. Zur Erhöhung ihrer Altersbeständigkeit und ihrer Stabilität bei der Verarbeitung werden einige Kunststoffe mit kleinen Mengen (bis 2%) bestimmter „Stabilisatoren" versetzt, entweder gleich bei der Herstellung oder bei der späteren „thermoplastischen" Verarbeitung. Die als Stabilisatoren gebrauchten Produkte zeigt die Tabelle 9.

Tabelle 9. *Stabilisatoren und Acceleratoren*

Metallsalze	
Natrium	-carbonat, -citrat, -silikat, -phosphat, -lactat
Kalium	-citrat
Ammonium	-citrat
	Kalium-ammonium-phosphat
Calcium	-carbonat, -mono-, -di-, -triphosphat, -acetat, -äthylaceto-acetat-acetat, -glycerophosphat
Magnesium	-mono-, -di-, -triphosphat, -glycerophosphat
Blei	-carbonat, -sulfat, -salicylat, -silikat
Metallsalze von Fettsäuren	
Calcium	-rizinoleat, -stearat, -oleat
Magnesium	-stearat
Aluminium	-mono-stearat, -äthylcapronat
Zinn	-stearat, -dibutyllaurat-maleat, -dilaurat-dibutyrat, -diacetat-dibutyrat
Zink	-stearat
Barium	-2-äthylhexylat, -rizinoleat
Strontium	-laurat
Cadmium	-naphthenat
Blei	-stearat
Verschiedene organische Verbindungen	
	Hydrochinon, Hydrochinonäther, Phenole, Phenylindol, Epoxyde, Diphenylthioharnstoff

Sinn der Mehrzahl dieser Stoffe ist, schädliche Einflüsse durch Licht, Wärme und Sauerstoff, die die Stabilität der polymeren Produkte ungünstig beeinflussen, zu verhindern (Berger). Zum Neutralisieren saurer Zersetzungsprodukte genügen häufig einfache *Alkalien*, die auch in Form von Seifen, also den Metallsalzen der Fettsäuren, zugegeben werden können, zumal diese zugleich als Emulgatoren bei der Polymerisation wirken sowie unter Umständen die Verarbeitungsfähigkeit der Kunststoffe günstig beeinflussen. Ein beliebtes „Gleitmittel" z. B. ist Zinkstearat. Einige Hochpolymere sind lichtempfindlich, weswegen für bestimmte Zwecke als „Stabilisator" ein *Pigment* (Ruß = „Carbon black") zugesetzt wird.

Antioxydantien wie Hydrochinon oder Hydrochinonäther sind vor allem für Kautschuk und ähnliche Kunststoffe notwendig, die infolge der noch vorhandenen ungesättigten Reste sauerstoffempfindlich sind. Charakteristische Bestandteile der natürlichen oder synthetischen Kautschukarten sind außerdem bestimmte Schwefelverbindungen, die als „Vulkanisationsbeschleuniger" zugesetzt werden. Als „Antistaticum" zur Verhütung der elektrostatischen Aufladung von Kunststoffgeweben oder Folien dient vor allem Zinkchlorid.

Polymerisationskatalysatoren oder *Akzeleratoren* (Beschleuniger), unter denen die organischen Peroxyde eine besondere Rolle spielen, sind im allgemeinen in den Fertigprodukten nicht mehr enthalten, da sie — nur in kleinsten Mengen zugesetzt — bei der Polymerisation zum größten Teil verbraucht werden. Ihre etwaige

gesundheitsschädigende Wirkung hat also nur für die mit der Herstellung oder Verarbeitung der Kunststoffe Beschäftigten Bedeutung, was auch besonders für die zur Herstellung von Schaumstoffen benutzten „Treibmittel" gilt (siehe unter C 2c, S. 99).

C. Gewerbetoxikologische Probleme und Methoden

Bei der *biologischen* Beurteilung dieser heterogenen Körperklasse mit ihren Zusätzen und Begleitstoffen ergibt sich eine Fülle von Problemen, besonders für den Gewerbetoxikologen *innerhalb der Industrie*, da dort solche Produkte tonnenweise hergestellt und verarbeitet werden (Günther). Die Beschäftigten kommen also — mitunter täglich — in einem Ausmaß mit den Vor-, Zwischen- und Endprodukten in Berührung, wie es *außerhalb der Industrie* gar nicht möglich ist (vgl. S. 100). Da für Schäden beim beruflichen Umgang mit solchen Stoffen — infolge ungenügender Warnung vor nachweislichen Gefahren — die Herstellerbetriebe laut Gewerbeordnung, HGB und BGB haftbar sind, muß grundsätzlich *jedes* neue chemische Produkt — zumindesten im „Range finding test" — [Smyth u. Carpenter (1, 2, 3); Smyth, Carpenter u. Weil (1 u. 2)] biologisch geprüft werden.

Darüber hinaus ist es Aufgabe des Gewerbetoxikologen, auch etwaige Gesundheitsgefahren *außerhalb* des Herstellerwerkes, d. h. also *im täglichen Leben* z. B. durch Gebrauchsgegenstände aus Kunststoffen oder Kunstfasern rechtzeitig zu erkennen und zu verhüten (siehe C 2, S. 92).

Dabei erfordert die etwaige Verwendung von Kunststoffen als *Verpackungsmaterial* für *Lebensmittel* eine verschärfte toxikologische Prüfung aller extrahierbaren Substanzen (siehe D, S. 105).

Ganz andere biologische Probleme schließlich werden aufgeworfen durch die *chirurgische Verwendung* bestimmter Kunststoffe am und im menschlichen Körper, z. B. durch ihre Implantation als Fäden, Folien oder Plomben (siehe E, S. 115).

Fast in allen angeführten Fällen wirken die fraglichen Stoffe *wiederholt* oder sogar *täglich* über sehr lange Zeit auf den menschlichen Organismus ein. Es handelt sich also vornehmlich um Probleme der *chronischen* Toxicität sowie um Fragen der etwaigen Beeinträchtigung der Gesundheit durch chemisch mehr oder weniger aktive Produkte nach der Einwirkung über *extrem lange Zeiten.*

Zur Feststellung etwaiger Gefahren beim Umgang mit den genannten Produkten stehen dem Gewerbetoxikologen zwei — grundsätzlich verschiedene — Möglichkeiten zur Verfügung:

1. Der *Tierversuch* zur Bestimmung der akuten und chronischen Toxicität eines Stoffes.

Dabei müssen die üblichen Prüfungsmethoden in Anbetracht der häufig recht speziellen Fragestellung in mancher Richtung erweitert werden. Nur diese Besonderheiten der gewerbetoxikologischen Versuche werden im folgenden erwähnt.

2. Die *ständige Überwachung* der mit der Herstellung und Verarbeitung Beschäftigten unter Kontrolle der am *Arbeitsplatz* vorhandenen Mengen und Konzentrationen verdächtiger Stoffe.

Eine solche Überwachung durch erfahrene Werksärzte ist von ganz besonderer Bedeutung, da bei vielen Produkten die Frage einer etwaigen Gesundheitsschädigung nur am *Menschen* beurteilt werden kann und da Rückschlüsse vom Tierversuch auf den Menschen immer nur mit größter Zurückhaltung möglich sind.

1. Tierversuche. *a) Akute Toxicität.* Zur Beurteilung der akuten Toxicität kann in der Gewerbetoxikologie nie die „24 Std-LD 50" dienen, sondern allenfalls die nach einmaliger Applikation *innerhalb von 10 bis 14 Tagen* tödlich wirkende Substanzmenge. Während dieser Beobachtungszeit wird das Verhalten der überlebenden Versuchstiere überwacht. Auch *diese* Beobachtungszeit ist bisweilen zu kurz, da z. B. nach der einmaligen peroralen Applikation *chlorierter mehrringiger Kohlenwasserstoffe*, wie sie in Weichmachern für Fußbodenbeläge und Kabelmassen vorkommen können, der Tod der Versuchstiere noch Wochen und Monate später eintritt. Über diese bei der Zersetzung von Trichlorphenol entstehenden chlorierten Kohlenwasserstoffe wurde bereits berichtet [Hofmann; Oettel (1)].

Im übrigen interessiert es gar nicht, durch welche Menge eines neuen Produktes ein Mensch voraussichtlich innerhalb eines oder weniger Tage umgebracht werden kann, sondern vielmehr, mit welcher Menge oder Konzentration dieses Produktes der Mensch *ohne Gefährdung* seiner Gesundheit in Berührung kommen darf. Eine solche Aussage ist aber wesentlich schwieriger als die Angabe der akuten Toxicität in Gramm/Kilogramm Tier. Die LD 50 ist zwar ein wissenschaftlich recht exakter Wert, über die *Gefahr beim Umgang* mit neuen Substanzen sagt er aber recht wenig. Die LD 50 (Gramm/Kilogramm/Maus oder Ratte) einfach zu multiplizieren, um daraus die wahrscheinlichen Vergiftungsgefahren für den etwa 70 kg schweren Menschen zu berechnen (Gleason, Gosselin u. Hodge) ist ein gefährliches Verfahren, vor dem nur gewarnt werden kann [Oettel (2)].

b) Chronische Toxicität und cancerogene Wirkung. Bei der Bestimmung der chronischen Toxicität sind monate- oder jahrelange Fütterungsversuche mit *Ratten* unter Kontrolle ihres Gewichtes und der finalen histologischen Untersuchung der Organe nicht genügend, sie können sogar zu Fehlschlüssen verleiten. Bei langdauernden Fütterungsversuchen an Ratten wird meist viel zu wenig berücksichtigt, welche *natürlichen Altersveränderungen* bei diesen Tieren auftreten können, und leicht werden solche Veränderungen als Folge der Applikation der untersuchten Produkte gedeutet (Saxton u. Kimball; C. C. Smith et al.; C. M. McCay; Wilens u. Sproul).

Diese Einschränkung gilt ganz besonders dann, wenn bei chronischen Toxicitätsversuchen irgendwelche *Tumoren* beobachtet werden. Sie

können als Folge der Applikation der dargereichten Substanzen nur dann bewertet werden, wenn bei einer genügend großen Zahl von *Kontrolltieren* des *gleichen* Alters bekannte, für den Menschen *nicht* cancerogene Produkte bei gleichartigem Zufuhrweg *signifikant weniger* Tumoren bewirkten als bei den Versuchstieren (vgl. D 3, S. 113).

Diese Kontrolle fehlt leider bei den meisten chronischen Toxicitätsversuchen, oft auch dann, wenn die Produkte speziell auf ihre etwaige cancerogene Wirkung geprüft werden sollen. Die allgemeinen Angaben, daß die Kontrollgruppen „praktisch frei von Spontantumoren" waren, oder daß in den Kontrollgruppen „nur wenige Prozent Spontantumoren" aufgetreten seien, genügen nicht, solange nicht hinzugefügt wird, mit *wievielen Tumoren* von Kontrolltieren des *gleichen* Alters — also von den zwischen dem ersten und zweiten bzw. zwischen dem zweiten und dritten Lebensjahr gestorbenen Tieren — diese Tumorhäufigkeit berechnet wurde bzw. an welchen *anderen Spontanerkrankungen* die Kontrolltiere gestorben sind. Laboratoriumstiere sterben im Greisenalter wie der Mensch mit großer Wahrscheinlichkeit an *Kreislauf-* bzw. *Gefäßveränderungen* oder an *Tumoren*, wozu bei den Ratten noch die *Lungenabscesse* als wichtige Todesursache kommen.

Man muß also eine *sehr große Zahl* von Versuchstieren je Gruppe ansetzen, um aus den im zweiten und dritten Lebensjahr noch vorhandenen Ratten einer Versuchsgruppe eine statistisch einwandfreie Auswertung der Ergebnisse vornehmen zu können, worauf besonders Barnes u. Denz hingewiesen haben.

Zur Beurteilung der Toxicität neuer chemischer Produkte ist viel wichtiger als der jahrelange Fütterungsversuch an Ratten die *mehrmonatige Verabreichung* solcher Substanzen an Kaninchen, Hunde und vor allen Dingen *Katzen*, die in dieser Zeit genau klinisch überwacht werden. Es ist also notwendig und möglich, mit *speziellen klinisch-chemischen Methoden* (morphologische und chemische Blut- und Harnkontrolle, Leber- und Nierenfunktionsprüfungen, Stoffwechsel usw.) und durch ständige Beobachtung des Gesamtzustandes und des Verhaltens jedes einzelnen Versuchstieres auch geringe Veränderungen als Folge der applizierten Substanz kritisch zu bewerten („funktionelle Toxikologie"). Durch tägliche Zufuhr der Mengen oder Konzentrationen, die bei Katzen oder Hunden eben nachweisbare Funktionsstörungen verursachen, kann gleichzeitig festgestellt werden, ob eine *Gewöhnung* oder *Kumulation* der Wirkung eintritt.

Bei der praktisch wichtigen Bestimmung der *percutanen Toxicität* sei auf die große Bedeutung der angewandten Lösungsmittel hingewiesen. Bei subakuten und chronischen Hautresorptionsversuchen muß die gleichzeitige perorale Zufuhr oder Inhalation durch entsprechende Methoden oder Apparaturen verhindert werden. Außerdem muß an der

unversehrten Haut und nicht an der durch die Vorbereitung mehr oder weniger verletzten oder veränderten Haut untersucht werden, wie mein Mitarbeiter Schütz in Spezialversuchen zeigte.

c) Inhalationstoxicität. Zur Beurteilung der Gefahr beim Umgang mit *flüchtigen* Produkten ist die Prüfung der Inhalationstoxicität an *höheren* Tieren unter ständiger klinischer Überwachung unerläßlich, nachdem man etwaige *ganz akute Gefahren* dadurch erkannt oder ausgeschlossen hat, daß man Ratten in eine bei Zimmertemperatur mit der fraglichen Substanz gesättigte Luft gebracht und die Zeit festgestellt hat, die von 50% der exponierten Tiere überlebt wurde („Zeit-Sättigungs-Test"). Wird die einmalige, 4—6stündige Exposition der *gesättigten* Atmosphäre von *allen* Ratten 14 Tage überlebt, so kann das Produkt als *ungefährlich* hinsichtlich *akuter* Inhalationstoxicität bezeichnet werden.

Per inhalationem wird nicht nur die Wirkung von *Dämpfen* verschiedener Konzentrationen, sondern auch die Wirkung der *vernebelten* oder *zerstäubten* Produkte sowie der bei höherer Temperatur (thermoplastische Verarbeitung der Kunststoffe!) entstehenden Zersetzungsprodukte geprüft.

Das Ziel der *chronischen* Inhalationsversuche ist die Bestimmung *der* Konzentration, die auch von empfindlichen Tierarten *täglich 6—8 Std* ohne jeden nachweisbaren Schaden vertragen wird, um daraus Rückschlüsse ziehen zu können auf die für den Menschen *wahrscheinlich unschädlichen Konzentrationen des Produktes am Arbeitsplatz.* Die von amerikanischen Autoren (Cook; Elkins) als „Maximum Allowable Concentration" bezeichneten, von der American Conference of Governmental Industrial Hygienists jährlich neu herausgegebenen „Threshold Limits[1]" wurden in Deutschland als „*MAK-Werte*" (maximale Arbeitsplatzkonzentration) eingeführt [Oettel (3)]. Leider sind die MAK-Werte fast schneller in *Mißbrauch* als in *Gebrauch* gekommen. Selbstverständlich sind diese Zahlen niemals *absolute*, im Tierversuch feststellbare Grenzwerte. Die Bestimmung der maximalen Arbeitsplatzkonzentration, also eines gültigen MAK-Wertes, kann für jede Substanz nur durch dauernde *Kontrolle am Arbeitsplatz* selbst erfolgen.

Grundsätzlich muß in *jedem* chronischen Toxicitätsversuch ein *Standardpräparat* mitgeführt werden, zumindest aber müssen die Versuchsergebnisse auf Standardprodukte bezogen werden, deren biologische Wirkung am *Menschen* bekannt ist und die am gleichen Tier in gleicher Weise untersucht wurden.

Das geschieht bei toxikologischen Untersuchungen leider sehr selten, wodurch viele Berichte über die biologischen Wirkungen neuer chemischer Produkte in der Luft schweben, weil die Befunde mangels

[1] Die letzten Werte wurden 1956, Arch. Ind. Health **14**, 186ff veröffentlicht.

geeigneter Standardsubstanzen nicht auf den *Menschen* übertragbar sind.

Hier muß durch Prüfung *typischer Standardpräparate* noch einige „Grundlagenforschung" getrieben werden. Von Stoffen wie *Alkohol* und *Glycerin* (Johnson et al.) oder von *Coffein* und *Nicotin* ist zwar einigermaßen bekannt, welche Veränderung die langdauernde Zufuhr mehr oder weniger großer Dosen *beim Menschen* bewirkt. Über die *chronische* Wirkung dieser Genußgifte oder Nahrungsmittel bei den *verschiedenen Versuchstieren* ist aber wenig bekannt, und die bekannten Daten werden kaum als Standardwerte herangezogen. Die interessanten Versuche von Thienes et al. mit Nicotin wurden leider mit Dosen durchgeführt, die nahe an den *akuten* Krampfdosen lagen.

d) Lokale Wirkung und Sensibilisierung. Auch zur Prüfung der lokalen Wirkung von Kunststoffen und ihren Zusatzstoffen bei längerer Berührung mit der *Haut-*, *Schleimhaut* oder den *inneren Geweben* müssen *Standardpräparate* von bekannter Wirkung am Menschen mit geführt werden,zumal beträchtliche Wirkungsunterschiede bei den einzelnen Tierarten bestehen und Tiere ja bekanntlich „Felle" sehr verschiedener Art haben.

Bei Prüfung der lokalen *Hautreizwirkung* eines Produktes ist noch am ehesten ein direkter *Vergleichsversuch am Menschen* möglich. Dabei ist zu berücksichtigen, daß die Wirkung eines Produktes sehr von der *Verdunstungsmöglichkeit* (Äthylenoxyd, vgl. Sexton u. Henson) und noch mehr von etwaigen *Lösungsmitteln* abhängt. Eine einfache und zweckmäßige Methode zur Prüfung der Reizwirkung von Flüssigkeiten am Menschen unter Verhütung der Verdunstung wurde von H. J. Oettel angegeben, sie hat sich auch bei unseren Untersuchungen bewährt.

Die *routinemäßige* Prüfung der etwaigen *Schleimhautreizwirkung* im Tierversuch ist immer noch ein Problem. Ergebnisse an der *Conjunctivalschleimhaut* können nicht ohne weiteres auf andere Schleimhäute übertragen werden. Man ist vorläufig noch darauf angewiesen, etwaige bei den Toxicitätsversuchen beobachtete Reizungen der *Schleimhaut* der *Verdauungs-* und *Atmungswege* zu verwerten, die aber naturgemäß von sehr vielen *unkontrollierbaren Faktoren* abhängen. Selbst die sonst so nützliche Backentasche des Hamsters ist für die Routinetestung des Schleimhautreizes nicht recht geeignet.

Wie mein Mitarbeiter Zeller (2) feststellte, läßt sich die Frage nach einer *etwaigen Hautsensibilisierung* eines neuen Produktes mit dem *Meerschweinchentest* nur dann leicht beantworten, wenn das Produkt schon eine *direkte* Hautreizwirkung besitzt. Bei Stoffen ohne primäre Reizwirkung ist der Gewerbetoxikologe auf die andere, oben erwähnte Untersuchungsmethode *besonders* angewiesen, auf die ständige *Beobachtung* der mit dem fraglichen Stoff *Beschäftigten*.

2. Erfahrungen bei der Herstellung und Anwendung von Kunststoffen. Da es unmöglich ist, die gesamte Weltliteratur der biologischen Wirkung von Kunststoffen und ihren Bausteinen an Tier und Mensch auch nur zu zitieren, wird im Folgenden vor allem über eigene Erfahrungen und Ergebnisse berichtet.

Hautschädigungen sind bei weitem die häufigsten chemischen Berufskrankheiten in der gesamten Industrie (Schreus). Auch in der chemischen und damit in der kunststoffherstellenden Industrie stehen Hautschädigungen unter den *meldepflichtigen Berufskrankheiten* an erster Stelle, z. B. in den Jahren 1949—1952 mit 1438 Meldungen noch vor den nächsthäufigen Kohlenoxyd- (405 Fälle) und Bleivergiftungen (325 Fälle). Auch bei den *nicht* als Berufskrankheiten zählenden sonstigen *akuten chemischen Schädigungen* sind — selbst in der chemischen Industrie — *eigentliche Vergiftungen* eine Ausnahme; z. B. waren etwa 86% der 1952 gemeldeten *chemischen Unfälle Verätzungen* durch Flüssigkeiten, ätzende feste Stoffe oder Ätzgase, wie den „Giftlisten" der Berufsgenossenschaften zu entnehmen ist [Oettel (4)].

Aus den regelmäßigen *Meldungen aller chemischen Schädigungen* der Beschäftigten eines Betriebes erfährt der Gewerbetoxikologe also schnell, ob ein verdächtiger Stoff in Arbeit ist oder als Nebenprodukt bzw. Verunreinigung auftritt.

a) Monomere und Polymere. Aus solchen *Beobachtungen und den Tierversuchen* weiß man, daß sich unter den *Bausteinen* der Kunststoffe einige ausgesprochene *Allergene* befinden. In Bestätigung der Tierversuche mußte man darüber hinaus feststellen, daß die chemisch äußerst reaktionsfähigen Monomeren bei unvorsichtiger Handhabung nicht nur zu Hautschädigungen, sondern bisweilen auch zu *resorptiven* Vergiftungen führen können.

Von den Vinylverbindungen verursachte z. B. das *Acrylnitril* bereits in Konzentrationen um 20 ppm nach nur 20—45 min Exposition Schleimhautreiz und Hautjucken, resorptiv Kopfschmerzen und Übererregbarkeit und bei der Einwirkung höherer Konzentrationen Leberschäden (Dudley u. Neal; McOmie; Harris (1); Wilson, Hough u. McCormick; Wilson u. McCormick). Der amerikanische MAK-Wert von 20 ppm scheint also etwas zu hoch zu sein (Elkins). Jedenfalls ist beim Umgang mit Acrylnitril ähnliche Vorsicht notwendig wie beim Umgang mit *Blausäure*. Auch nach eigenen Untersuchungen wirken einfache, kurzkettige Nitrile im Organismus vor allem durch HCN-Abspaltung, so daß ihre Toxicität, wie die der Blausäure, durch die *Methämoglobin-bildenden Nitrite* abgeschwächt werden kann [Oettel (5)]. Verzweigte und längerkettige Nitrile sind dagegen wesentlich weniger toxisch (Oettel u. Zeller). Das *polymere Acrylnitril* (z. B. „Orlon")

ist biologisch völlig unwirksam, da sich unter normalen Bedingungen keine Monomeren zurückbilden können[1].

Acrylamid ist zwar kein „Grundstoff für wichtige polymere Kunststoffe („Polyamide")" (DRUCKREY et al.), Polyamide entstehen laut Tab. 3, S. 82 ganz anders; Acrylamid wird aber als Baustein in einigen neuen Mischpolymerisaten benutzt. DRUCKREY sah bei Toxicitätsversuchen an Ratten eine kurz nach dem Tod der Tiere eintretende

Tabelle 10

Tierart	Dosis mg/kg	Anzahl der Dosen	Schwere, fast irreversible Nervenschädigungen (geschädigte Tiere/Gesamttierzahl)
Ratte . .	500	21	5/5
Kaninchen	250	46—52	2/2
	100	17—20	0/2
Katze . .	250	5—10	3/3
	100	4—45	4/4
Hund . .	500	3—6	2/2
	250	6—27	2/2
	100	191—330	0/4

Tägliche perorale Verabreichung von *Methacrylamid*. Bei allen Tierarten treten an multiple Sklerose erinnernde Nervenschädigungen auf.

„Starre", die er in Beziehung setzt zu der von ihm beobachteten „Erstarrung von Proteinen" durch Umsatz mit Acrylamid. WILKE zeigte bereits, daß DRUCKREYS Vorstellung über eine spezifische Anlagerung des „bifunktionellen" Acrylamids an „aktive Gruppen der Proteine", die sogar geeignet sein sollte, um „Strukturprobleme bei Protein-Experimenten zu behandeln", experimentell nicht haltbar ist.

Dagegen konnten HOFMANN u. OETTEL (1) beobachten, daß *Acrylamid* und *Methacrylamid* starke Nervengifte sind. Nach peroraler Gabe ab 50 mg/kg (bei Methacrylamid ab 100 bzw. 250 mg/kg, Tab. 10) treten bei allen untersuchten Tieren (Ratten, Kaninchen, Katzen, Hunden) eigenartige, an *multiple Sklerose* erinnernde Vergiftungserscheinungen auf, die bei Hunden durch psychische Erregungen wesentlich verstärkt werden. In den Vergiftungsversuchen mit Methacrylamid erscheinen Hunde in der Ruhe symptomenfrei, sie verfallen aber sofort in einen spastischen Krampfzustand oder stelzenartigen Gang, sobald sie in Erregung kommen. Diese Nervenwirkung bildet sich — auch nach nur dreimaliger Methacrylamid-Gabe innerhalb von 3 Tagen! — erst *im Laufe von Monaten oder Jahren* zurück.

[1] Es ist aber zu beachten, daß Polyacrylunitril-Gewebe sehr leicht brennen, wobei sich freies Acrylitril bilden kann. Es soll auf diese Weise bei Unglücksfällen zu Vergiftungen gekommen sein (BERGER).

In der Industrie sind Nervenschädigungen beim Umgang mit Acrylamid oder Methacrylamid glücklicherweise noch nicht beobachtet worden. Wahrscheinlich werden die Stoffe nicht durch die Haut resorbiert. Außerdem zeigten einige Versuche an Hunden, daß Mengen *dicht unterhalb* der *akut stark toxischen* Dosis *ein Jahr lang* ohne Schädigungen zugeführt werden können. Methacrylamid ist also sicher kein „Kumulations-" oder gar „Summationsgift". Acrylamid als „einfaches Modell für bi- oder polyfunktionelle Substanzen, die Krebs erzeugen können", zu biologischen Untersuchungen zu benutzen (Druckrey et al.), ist wissenschaftlich nicht begründet. Die Nervenwirkung von Acrylamid hat sicher mit Krebs gar nichts zu tun.

Die *monomeren Acrylsäureester* bewirken geringen Haut-, aber *stärksten Schleimhautreiz*. Etwas weniger stark reizen die Methacrylsäureester. Beide Esterarten verursachen im Tierversuch bei der Inhalation nicht nur Entzündung der Atemwege bis zu Lungenödem, sondern auch resorptive Vergiftungen mit Nieren- und Leberschädigungen [Deichman; Spealman et al.; Karpow, Pozzani et al., Treon et al (2)]. Die Geruchsbelästigung durch Acrylsäureester und Methacrylsäureester ist freilich so stark, daß schleimhautreizende Konzentrationen bei der Verarbeitung gar nicht ertragen werden. Auf Grund dieser Geruchsbelästigung und der starken Schleimhautreizwirkung wurde von der American Conference of Governmental Industrial Hygienists 1956 für Methylacrylat und Äthylacrylat ein „Tentative Value" von 10 ppm (= 35 mg/m³) bzw. 25 ppm (= 100 mg/m³) vorgeschlagen[1]. Die entsprechenden Werte für Methacrylsäureester dürften höher liegen.

Noch viel stärkere Reizstoffe sind die Chlorderivate dieser Ester. Der *Methyl-α-chloracrylsäureester* z. B. wirkt lokal fast kampfstoffartig und durchdringt als Flüssigkeit und in Dampfform sogar Gummihandschuhe. Bei einigen leichten Vergiftungsfällen und in Tierversuchen sahen wir (Hilgenfeldt, Oettel, Zeller), daß der beim gleichen Arbeitsgang verwendete *α,β-Dichlorpropionsäureester* primär fast *reizlos* ist, so daß die Flüssigkeit auf der Haut oder die Dämpfe in den Augen zunächst gar keine Sensationen bewirken. Im Verlauf einiger Stunden stellt sich aber dann eine sehr schmerzhafte Keratitis bzw. eine Dermatitis mit blasiger Abhebung großer Hautpartien ein. Nach ähnlichen Beobachtungen von Harris (2) entstehen offenbar aus den Dichlorpropionsäureestern im Organismus allmählich die *α-Chloracrylsäureester* ($H_2CCl—CHCl—COOCH_3 \rightarrow H_2C=CCl—COOCH_3 + HCl$).

Die *Polymerisationsprodukte* auch dieser stark reizenden monomeren Acrylsäurederivate sind dagegen reizlos. Die auspolymerisierten *Polymethacrylate* haben sich sogar wegen ihrer Reizlosigkeit für Implan-

[1] (Arch. Ind. Health **14**, S. 186, 1956).

tationszwecke ganz besonders gut bewährt (siehe S. 115). Es ist aber verständlich, daß bei der Anwendung von Polymethacrylaten in der Zahnmedizin zur Cavitätenfüllung Reizungen *dann* nicht zu vermeiden sind, wenn der Zahn mit einem Gemisch von Polymeren und *freien Monomeren* gefüllt wird, wobei die endgültige Polymerisation erst in der Cavität eintritt [Mohr (1)]. Das völlig auspolymerisierte Polymethacrylat führt — selbst bei jahrelanger intensiver Berührung mit der Mundschleimhaut in Form von Zahnprothesen — niemals zu Reizungen [Hattemer; Hecht (1); Spreng].

Ähnliches gilt für die *Polykondensate*, zu deren Herstellung *Formaldehyd* benötigt wird. Formaldehyddämpfe führen bereits in Konzentrationen über 5 ppm (= MAK-Wert!) zu Schleimhautreizungen, und nur von gewohnten Arbeitern werden über längere Zeit Konzentrationen bis 20 ppm ertragen (Elkins; Markuson et al.). Mancher Arbeiter muß aber aus dem Herstellungsbetrieb versetzt werden, weil er infolge einer *Sensibilisierung* gegen Formaldehyd immer wieder rezidivierende Lidödeme oder Interdigitalekzeme bekommt [Harris (1); Pirilä; Lockey; Wyss; Johnstone]. Die gleichen Erfahrungen beim Umgang mit Formaldehyd mußten bekanntlich Anatomen, Pathologen und Konservatoren machen. Aus solchen Erfahrungen beim langdauernden Umgang mit Formaldehyd [Harris (1)] und aus direkten Versuchen am Menschen (Wagner; Yonkman et al.) wissen wir aber auch, daß Formaldehyd beim Menschen keine resorptive chronische Vergiftung bewirkt.

Bei einigen zu den Polykondensaten gehörigen Kaltleimen oder -lacken wird nach Zugabe von „Härtern" erst während der Verarbeitung die vorher gebremste Polykondensation unter Abspaltung von Wasser und Formaldehyd zu Ende geführt. Werden solche Produkte ohne die notwendige Sorgfalt verarbeitet, so kommt es um so leichter zur Sensibilisierung mit lästigen Ekzemen, je mehr durch innige Berührung der *leimartigen* Stoffe mit der Haut die Formaldehydwirkung intensiviert wird (Ernst, Humperdinck). In eingehenden Untersuchungen am sehr empfindlichen Kaninchen- und am leicht sensibilisierbaren Meerschweinchenrücken konnten wir feststellen, daß für die Reizung und Sensibilisierung sicher nur Formalin, nicht aber irgendwelche Anlagerungsprodukte von Formalin an Harnstoff verantwortlich sind. Gegen Formalin wirksame Schutzsalben müssen Aminosäuren oder Eiweiß enthalten (Oettel, Zeller).

Die ausgehärteten Leime bzw. die geleimten Hölzer, in denen Formaldehyd abgebunden ist, wirken — wie die aus Phenoplasten oder Aminoplasten hergestellten Kunststoffgegenstände vom Bakelit- oder Pollopastyp — weder reizend noch sensibilisierend. Da die Phenoplaste vom Bakelittyp zu den *ältesten* organischen Kunststoffen gehören (vgl. Abb. 1), liegt hier sogar eine jahrzehntelange Erfahrung am *Menschen* vor.

Ein weiteres Beispiel für solche nur bei der Herstellung von Kunststoffen auftretenden Schädigungen bietet eine der *jüngsten* Kunststoffklassen, die durch Polyaddition entstehenden „*Reaktionslacke*" und *Polyurethane* (vgl. S. 83). Die einen Reaktionspartner, die *Diisocyanate*, bewirken bereits in Konzentrationen um 1 ppm Schleimhautreizung. Konzentrationen von etwa 50 ppm verursachen toxische Degenerationen des Epithels der Atemwege, wodurch Asthmaanfälle ausgelöst und Bronchopneumonie verursacht werden können (Friebel, Lüchtrath). Bei der Verarbeitung solcher Lacke ist daher besondere Vorsicht notwendig, die Konzentration am Arbeitsplatz soll 0,1 ppm nicht überschreiten (Ehrlicher u. Pilz; Stokinger). Den durch die Polyaddition entstandenen Lacken dagegen und den übrigen *Polyurethanen*, in denen alle reaktiven Gruppen intramolekular abgesättigt sind, fehlt jede schädigende Wirkung [Schürman; Reinl (1); Ganz u. Mager; Swensson et al.].

Auch aus dem physiologisch völlig indifferenten *Polystyrol* können bei der thermoplastischen Verarbeitung *Styroldämpfe* entweichen, die schleimhautreizend wirken wie Benzol (Spencer et al.; Loeser u. Bornmann), denen aber glücklicherweise die heimtückische, blutschädigende Wirkung des Benzols fehlt (Hofmann u. Oettel (1); Fabre u. Truhaut).

Selbst aus den recht temperaturresistenten *Polyfluorkohlenwasserstoffen* können bei der zur Verarbeitung notwendigen höheren Temperatur Dämpfe entstehen, deren Inhalation vorübergehende Fieberattacken erzeugt [Harris (2)], ähnlich wie die Inhalation einiger Metalloxyde oder vom Staub bestimmter Naturfasern (Elkins, S. 176). Bei normaler Temperatur wirkt dagegen die Inhalation von Kunststoffstaub nicht anders als die Inhalation irgendeiner inerten Staubart. Nach intratrachealer Injektion von Polyamidstaub [Massmann u. Pilgrim (1)] wurden bei Ratten nur typische Fremdkörperreaktionen gesehen, die geringer waren als nach intraperitonealer Injektion [Massmann, Pilgrim (2)].

Sorgen machen dem Gewerbetoxikologen also niemals die *fertigen Kunststoffe*, sondern immer nur die *reaktionsfähigen Monomeren* oder andere Bausteine, die in besonderen Fällen bei der Verarbeitung frei werden [Lefaux (1); Günther; Birmingham].

b) Kunststoff-Fasern. Daß die in Körpersekreten unlöslichen Kunststoffe von der menschlichen Haut nicht schlechter vertragen werden als die entsprechenden hochpolymeren Naturprodukte, wurde bereits durch die jahrzehntelange Anwendung „abgewandelter Naturstoffe" in Form der *halbsynthetischen Fasern* bewiesen. Auch die vollsynthetischen *Polyamidfasern* wie Perlon und Nylon unterscheiden sich in ihrem physiologischen Verhalten auf der Haut nicht von den natürlichen Fasern Wolle

und Seide [Eyer u. Schaeling (1)]. Höchstens bei übertriebener Feinheit von Kunstfasergeweben, die z. B. bei Wolle und Baumwolle gar nicht erreichbar ist, kann physikalisch die Wasserabgabe der Haut sowie ihre Reaktion auf Licht beeinflußt werden, das ist also keineswegs Folge des Kunststoffcharakters der Gewebe [Eyer u. Schaeling (2)]. Beim Perlon wirkt nicht einmal das Monomere hautreizend, noch sensibilisierend (Schulz u. Herrmann), wie überhaupt das ε-Caprolactam eines der untoxischsten Monomeren ist (Goldblatt et al.; Hohensee).

Auch unter den übrigen zur Faserherstellung benutzten Kunststoffrohstoffen und ihren Monomeren befindet sich *kein typisches Allergen* [Zeller (2)]. Außerdem werden die etwa noch vorhandenen wasserlöslichen *Monomere* bei der ersten Wäsche des Kunststoffgewebes entfernt und beim Gebrauch nicht zurückgebildet.

Die nach dem Tragen neuer ungewaschener(!) Polyamidgewebe beobachteten *Hauterscheinungen* konnten in allen untersuchten Fällen als Überempfindlichkeitsreaktionen gegen Begleitstoffe, z. B. Farbstoffe vom Chinonimincharakter [Mayer; Dobkevitsch u. Baer (1 u. 2); Calnan u. Wilson] oder die zur leichteren Verarbeitung der Fäden angewandten „Avivagen", Schlichten oder andere Zusatzstoffe erklärt werden (Koch u. Hussong; Fleming; Schmitz; Schwartz). Mit den gleichen *Textilhilfsmitteln* werden aber auch die Naturfasern Wolle und Baumwolle versehen (Peck et al.; Klauder). Eine allergische Reaktion auf solche Zusatzstoffe hat also mit den Kunststoffen selbst nichts zu tun, außerdem kann man sich gegen die den verschiedensten Geweben anhaftenden Appreturen leicht schützen, indem man neue Gewebe grundsätzlich nicht ungewaschen[1] auf die Haut bringt (Keil).

c) Kunststoff-Zusatzstoffe (Stabilisatoren, Acceleratoren, Appreturen). Auch die etwaige gesundheitsschädliche Wirkung solcher bei der Verarbeitung von Kunststoffen benutzten *Zusatzstoffe* wird verständlicherweise zunächst *in der Industrie selbst* beobachtet. Aus der Geschichte der Baumwollspinnerei z. B. ist bekannt, welch unerfreuliche Wirkung *Spinnereihilfsstoffe* bei unvorsichtiger Handhabung in den Herstellerbetrieben haben können:

Die in England beim Spinnen von Baumwollfäden benutzten schottischen Schieferöle (Shale-Oil) verursachten bei den „Mulespinners" Webstuhlarbeitern (Murray; Brocksbank) Ekzeme und charakteristische Hautwarzen (Epitheliome), aus denen bisweilen Hautkrebse entstanden. Beim Menschen sind nicht nur die spontanen Hautkrebse, sondern auch diese durch Teer oder „Paraffinöle" entstandenen Haut-

[1] Bei Polyamidgeweben wie Perlon ist das häufige Auswaschen des Gewebes auch mit Rücksicht auf seine Stabilität empfehlenswert, da Polyamide säureempfindlich sind, so daß sie durch die von der Haut ausgeschiedenen Säuren angegriffen werden können.

veränderungen im allgemeinen durchaus gutartig. Bei den oft zitierten hohen Zahlen von Teerkrebsen [K. H. Bauer (2)] handelt es sich vor allem um die von Henry (1946) genannten 1335 relativ *gutartigen Epitheliome*, die bei Teerarbeitern und die 1719 Epitheliome, die bei Shale-Oil-Arbeitern nach einer Exposition von 30—50 Jahren beobachtet wurden. Bösartig werden solche Warzen nur bei grober Vernachlässigung in etwa 2% der Fälle.

In Versuchen von Cottini u. Mazzone bewirkte übrigens 3,4-Benzpyren an der menschlichen Haut nur „reversible und offenbar gutartige" Veränderungen, aber keinen Krebs. So verursachte auch das in der Gummi- und Kunststoffindustrie viel benutzte „Carbon black" (Ruß) bei der Verarbeitung keinen Krebs (Ingalls; Wilson; v. Haam u. Malette), obgleich es nach Tierversuchen cancerogen wirken soll (Steiner; Falks u. Steiner).

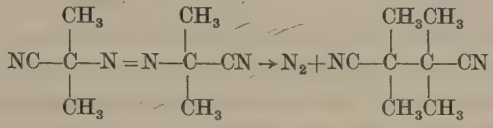
Ein weiteres bekanntes Beispiel dafür, daß etwaige, für den *menschlichen* Organismus *spezifische* biologische Wirkungen neuer Produkte infolge der viel stärkeren Exposition der Beschäftigten leichter *innerhalb* als *außerhalb* der Industrie erkannt werden, ist die bei der Kautschukverarbeitung beobachtete *Alkohol-Sensibilisierung* durch Alkylthiuramdisulfide (Vulkanisationsbeschleuniger), die zum Präparat „Disulfiram" („Antabus") führte (Hald u. Jacobsen). Selbst in jahrelangen Ratten-Fütterungsversuchen hätte man diese charakteristische Wirkung nie entdecken können.

Neuerdings wurde eine ähnliche Alkohol-Sensibilisierung in der amerikanischen Industrie (Lewis u. Schwartz) durch *Butyraldoxim* beobachtet, das als „Hautverhütungsmittel" für bestimmte Kunstlacke dient. Bei Betriebskontrollen in Deutschland konnte allerdings diese sensibilisierende Wirkung von Butyraldoxim am Menschen noch nicht bestätigt werden (Hilgenfeldt, Oettel).

Das als Stabilisator gegen die vorzeitige Polymerisation von Kunststoffmonomeren und als *Antioxydans* benutzte *Hydrochinon* oder der Hydrochinonäther „Agerite" führt bei langdauernder *lokaler* Einwirkung zu Depigmentierungen, was in der amerikanischen Gummiindustrie — zunächst bei Negern — beobachtet worden war (Zakon u. Goldberg; Duffield; Spencer). Bernstein u. Sachs beobachteten aber auch Depigmentationen *fern* von der Einwirkungsstelle und bei *weißen* Arbeitern mitunter gerade Überpigmentierung durch „Agerite". In Tierversuchen wurden schon 1935 allgemeine Depigmentierungen durch wiederholte *perorale* Zufuhr von Hydrochinon, also resorptiv, erzeugt: Schwarze Katzen konnten durch Hydrochinon in graue Katzen verwandelt werden, weswegen ein Eingriff in den Pigmentstoffwechsel angenommen wurde [Oettel (7)]. Neuerdings wird die depigmentierende Wirkung des Hydrochinons in Form seines Monobenzyläthers auch

therapeutisch (bei Überpigmentation) benutzt (p-Benzyloxyphenol, Monobenzon, „Benzoquin"; New and Nonofficial Remedies 1957, S. 568).

Bei der Herstellung von *Schaum-Gummi* bzw. *-Kunststoffen* wurde als Katalysator und Treibmittel Azo-bis-isobutyronitril benutzt, das bei Erhitzung über 190° Stickstoff abspaltet und damit dem Kunststoff die gewünschten Poren gibt:



Nach der Stickstoffabspaltung bleibt *Tetramethylbernsteinsäuredinitril* zurück, das bei 167° schmilzt. Es ist aber relativ flüchtig, so daß bei Raumtemperatur die Luft bereits 120 ppm des Bernsteinsäurenitrils enthalten und der frisch „getriebene" warme Schaumstoff noch eine Menge des flüchtigen Produktes abgeben kann. Bei der Herstellung und Verarbeitung solcher Schaumstoffe im heißen Zustand beobachtete man starke Übererregbarkeit bis zu epileptiformen Krampfanfällen der Arbeiter [Reinl (2)]. Im Tierexperiment erwies sich Tetramethylsuccinonitril als ein starkes Krampfgift. Peroral bewirkten bereits 25 mg/kg tödliche Krämpfe, und bei der Inhalation wurden Ratten durch 60 ppm nach 2—3stündiger, durch 6 ppm nach 30stündiger Exposition (Spolyar) getötet.

Weil es sich nicht vermeiden läßt, daß das Tetramethylbernsteinsäurenitril dem fertigen Kunststoff anfangs noch in geringer Menge anhaftet, hat man jetzt dieses technisch ausgezeichnete, aber doch nicht ganz unbedenkliche Treibmittel durch andere Stoffe ersetzt [Reinl (2)].

Bei der Herstellung der von Amerika zur Stabilisierung bestimmter Kunststoff-Folien eingeführten *Zinnstabilisatoren* wurde beobachtet, daß organische Zinnverbindungen vom Typ des Tributylzinns sehr starke Hautdegenerationen bewirken und daß auch andere organische Zinnverbindungen beträchtliche resorptive Toxicität besitzen [Zeller 1)]. Auf Grund dieser Erfahrungen werden nun alle Zinnstabilisatoren ganz besonders eingehend geprüft, ehe sie den Kunststoffen für die Praxis zugesetzt werden. Allerdings konnte bereits festgestellt werden, daß Zinnstabilisatoren mit langen Fettsäureketten wenig toxisch sind.

Starke lokale Hautreizmittel sind nach unseren Erfahrungen die *organischen Peroxyde*, wie Benzoyl- oder Cyclohexanon-peroxyd, die als Katalysatoren für Mischpolymerisate, z. B. bei der Verarbeitung der sogenannten Gießharze benutzt werden. Sie führen bei nur kurzdauernder Einwirkung zu erheblichen Entzündungserscheinungen von Haut und Schleimhaut. In Tierversuchen bewirkt 1 Tropfen im Auge Conjunctivitis und Keratitis mit oberflächlichen Hornhauttrübungen

und Hornhautdefekten [Zeller (1)]. Da bei der Polymerisation von Gießharzen Wärme entsteht, kann ein Teil der Peroxyde flüchtig werden und bei unvorsichtiger Verarbeitung zu Augenreiz führen, was aber leicht durch Schutzbrillen bzw. energische Ventilation zu vermeiden ist. Die *festen Gießharze* sind frei von solchen Peroxyden und wirken nicht reizend. Sie werden sogar *wegen* ihrer Reizlosigkeit und wegen ihres leichten spezifischen Gewichtes von Chirurgen gern als Ersatz für die schweren Gipsverbände benutzt (Schulze et al.).

Auch etwaige Gesundheitsgefahren von irgendwelchen Kunststoff-Zusatzstoffen können also — infolge der in der Industrie üblichen regelmäßigen Überwachung aller Beschäftigten — niemals übersehen werden, so daß Schädigungen durch solche Zusatzstoffe beim Umgang im täglichen Leben erst recht nicht zu befürchten sind [Lefaux (1), Mallette u. v. Haam (2)].

d) Weichmacher. Die Weichmacher sind leider dadurch in Mißkredit gekommen, daß einer der ersten Weichmacher für Polyvinylchlorid, das *Trikresylphosphat*, dessen Toxicität für den Menschen durch Massenvergiftungen in Amerika (verunreinigte Ginger-Getränke) und Deutschland (Apiol) längst bekannt war, zu Vergiftungen in Form mitunter irreversibler peripherer Lähmungen führte (Literatur bei Gross u. Grosse; Hartwigk; M. J. Smith et al.; Hine et al.; Kalbfleisch), wenn ein hochgereinigtes, daher praktisch geschmack- und geruchloses Trikresylphosphat versehentlich oder mißbräuchlich *als Nahrungsmittel* benutzt wurde (Humpe; Jordi; Staehelin). Nur einzelne Vergiftungen ereigneten sich durch ölhaltige Lebensmittel, die mit weichgemachtem PVC in enge Verbindung gekommen waren (Literatur bei Groetschel). Obgleich 10 Jahre lang jährlich etwa 5000 t Trikresylphosphat in Polyvinylchlorid verarbeitet wurden (Berger), sind weder bei der Verarbeitung von Trikresylphosphat noch bei der bestimmungsgemäßen Verwendung des weichgemachten Polyvinylchlorids Vergiftungen vorgekommen, worauf kürzlich wieder Tabershaw hinwies. Eine *Inhalation* des Dampfes ist infolge seiner geringen Flüchtigkeit nur unter äußerst unhygienischen Verhältnissen möglich (Hunter). Daß die von Groetschel beschriebenen nervösen Symptome einiger Arbeiterinnen durch Umgang mit Trikresylphosphat verursacht waren, ist lediglich eine Vermutung, zumal nicht einmal feststellbar war, ob überhaupt mit Trikresylphosphat gearbeitet wurde!

Selbst wenn Borgmann u. Hunold am Kaninchen und Hodge-Sterner — mit markiertem Trikresylphosphat sogar am Menschen — nachgewiesen zu haben glauben, daß Trikresylphosphat *percutan* resorbiert wird, sprechen die Erfahrungen dafür, daß Trikresylphosphat zumindesten *nicht leicht*, ganz besonders aber, daß es *äußerst schwer* aus

den weichgemachten *Kunststoffolien durch die menschliche Haut* in den Organismus gelangt. Bei der jahrelangen Verwendung von Schuhen aus Polyvinylchlorid, das etwa 50% Trikresylphosphat mit einem Gehalt von 30% Triorthokresylphosphat enthielt (Borgmann u. Hunold), sind niemals Vergiftungserscheinungen beobachtet worden, auch wenn die Schuhe auf der bloßen Haut getragen wurden (Hilgenfeldt).

Trotzdem sollte Trikresylphosphat als Weichmacher nur da eingesetzt werden, wo eine Gefahr der Schädigung durch das vorhandene Orthokresylphosphat nicht möglich ist. Gegen die Verwendung des blaugefärbten Trikresylphosphats[1] — z. B. in Kunststofftreibriemen im Bergwerk — bestehen keinerlei Bedenken, weil Schädigungen dabei nicht denkbar und auch noch nie vorgekommen sind.

Da das *orthokresylfreie Produkt* keine Lähmungen bewirkt (M. J. Smith et al.; Gross u. Grosse; Hine et al.), könnte es *ohne Gefahr* als Weichmacher sogar für Gebrauchsgegenstände benutzt werden[2]. Kleine Mengen von Orthokresylphosphat sind aber nur durch Ultrarotanalyse bestimmbar [Wurzschmitt (1)]. Trikresylphosphat, das nach der üblichen *chemischen Analyse* [Wurzschmitt (2), 1949] „praktisch orthofrei" war, nach der Ultrarotanalyse aber noch 3,3% Triorthokresylphosphat (ToKP) enthielt, bewirkte in unseren Versuchen bereits bei der einmaligen Gabe von 1 cm^3/kg Huhn irreversible Lähmungen!

Interessanterweise war die Nervenwirkung *vom Alter* unserer Versuchstiere abhängig: Die gleiche Menge (1 cm^3/kg), die erwachsene Hühner tödlich lähmte, bewirkte bei 120 Tage alten Hühnern viel schwächere Lähmungen, bei 5 und 40 Tage alten Küken gar keine Erscheinungen, und erst die wiederholte Zufuhr dieser Menge lähmte etwa 6 und 12 Wochen alte Tiere [Hofmann-Oettel (1), vgl. Tab. 11, S. 102]. Entsprechend sah man bei Massenvergiftungen mit durch Trikresylphosphat verunreinigten Lebensmitteln (Trinkwasser) schwere Lähmungen bei Erwachsenen, während die Säuglinge lähmungsfrei blieben, wobei allerdings die zugeführte Menge nicht so sicher eruierbar war wie in unseren Tierversuchen (Susser u. Stein). Der Unterschied zwischen jugendlichem und erwachsenem Organismus in der Empfindlichkeit gegen Trikresylphosphat scheint also vielleicht auch beim Menschen zu bestehen, obgleich die Nervenwirkung nicht über die Cholinesterase gehen soll (Hine et al.).

Jedenfalls sollten nach diesen Beobachtungen Weichmacher auf ihre etwaige Triorthokresylphosphat-ähnliche Nervenwirkung an *erwachsenen*

---

[1] *Für* die Verwendung des technischen Trikresylphosphats spricht sein niedriger Preis und seine Unbrennbarkeit.

[2] Sitzung des Ausschusses für Lebensmittelchemie der Arbeitsgemeinschaft der für das Gesundheitswesen zuständigen Minister in Wiesbaden am 8. u. 9. 6. 1949 [Z. Lebensmittelunters. **90**, 121 (1950)].

Hühnern oder an *Katzen* getestet werden. Übrigens verursachte bei unseren *Katzen* orthokresylhaltiges Trikresylphosphat — entgegen Literaturangaben (M. J. Smith et al.; Hine et al.), — auch nach *peroraler* Gabe relativ kleiner Mengen regelmäßig die spezifischen peripheren

Tabelle 11

Ortho-Gehalt berechnet als ToKP	Alter der Hühner (Tage)	Dosis cm³/kg	Anzahl d. Dosen	Anzahl der gelähmten/Gesamttierzahl
7,3%	erwachsen	1,0	1	10/10
	120	1,0	1	(10)[1]/10
	40	1,5	1	0/10
	5	1,0	1	0/10
	83	1,0	5	10/10
	41	1,0	5	10/10
3,3%	erwachsen	1,0	1	10/10
	5	1,0	1	0/10

Perorale Gabe technischer Trikresylphosphate mit einem Orthogehalt von 7,3 bzw. 3,3% an Hühner. Abhängigkeit der Trikresylphosphatwirkung vom Alter der Versuchstiere.

[1] Bei diesen Tieren bestand keine *vollständige* Lähmung.

Tabelle 12

Produkt	Alter der Hühner (Tage)	Dosis cm³/kg	Anzahl der Dosen	Anzahl der gelähmten/ Gesamttierzahl
Diäthylhexylphthalat .	83	1,0	5	0/10
Tri-kresylphosphat mit 7,3% ToKP . .	83	1,0	5	10/10
Dinonylphthalat . . .	120	1,0	5	0/10
Didecylphthalat. . . .	120	1,0	5	0/10
Tri-kresylphosphat mit 7,3% ToKP . .	120	1,0	1	10[1]/10

Vergleich einiger Phthalsäureester mit Trikresylphosphat an Hühnern bei peroraler Gabe. Im Gegensatz zu Trikresylphosphat *keine* Lähmungen durch die Phthalsäureester.

[1] Bei diesen Tieren bestand bereits nach einmaliger Gabe (!) eine unvollständige Lähmung.

Lähmungen, allerdings unter der Voraussetzung, daß es *in Olivenöl* verabreicht wurde.

Im Gegensatz zu Trikresylphosphat und Triphenylphosphat wird die Mehrzahl der jetzt als Weichmacher benutzten Ester auch bei langdauernder Zufuhr in relativ großen Mengen von allen Versuchstieren ohne nachweisbare Störungen vertragen [Hodge et al.; Treon at el (1); weitere Literatur bei Thinius u. Lefaux (2)]. Keiner dieser Dicarbon-

säureester hat die spezifisch toxische Wirkung des Triorthokresylphosphats. Die tägliche Gabe von 1 cm³/kg verschiedener Phthalsäureester z. B. bewirkte bei unseren Hühnern keine Lähmungen noch sonstige toxische Erscheinungen (siehe Tab. 12, S. 102).

Noch deutlicher zeigt die Katze, wie wenig toxisch die jetzt am meisten gebrauchten PVC-Weichmacher, die Phthalsäureester, sind. Von *Diäthylhexylphthalat* und *verwandten Phthalaten* z. B. vertrugen unsere

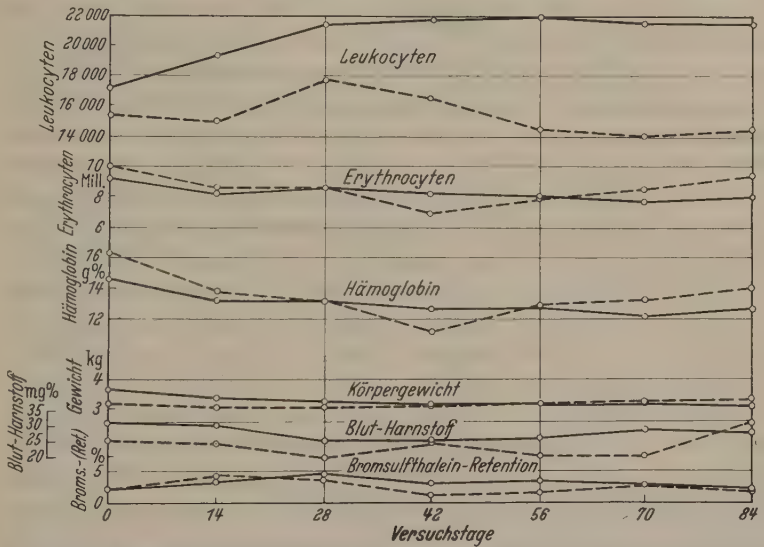


Abb. 2. *Die Wirkung der dreimonatigen täglichen Gabe verschiedener Phthalsäureester auf Körpergewicht, Blut, Nieren- und Leberfunktion von Katzen.* Ausgezogene Linie ——: Mittelwerte von 12 Katzen, davon je 3 Tiere Diäthylhexyl-, Dinonyl- und Didecylphthalat 2 cm³/kg und 3 Tiere Diäthylhexylphthalat 1 cm³/kg (50%ig in Olivenöl). Unterbrochene Linie - - -: Kontrolle, täglich Olivenöl 2 cm³/kg. Je 60 Dosen innerhalb von 84 Tagen. Die klinischen Untersuchungen wurden wöchentlich durchgeführt, der Übersicht wegen sind jedoch in der Kurve jeweils nur die Mittelwerte von je 2 Wochen angeführt. Die Leberfunktion wurde mit dem Bromsulphthaleintest [Mikromethode nach HOFMANN u. OETTEL (2)], der Harnstoff im Blut mit der Bromlaugenmethode nach KOWARSKI im Warburg-Apparat [Modifikation nach HOFMANN u. OETTEL] durchgeführt. Die Nieren wurden außerdem durch regelmäßige Harnanalysen einschließlich Sedimentbefund überwacht; die Befunde waren stets normal

Katzen die 3monatige tägliche Zufuhr der recht großen Menge von 2 cm³/kg (zusammen mit 2 cm³/kg Olivenöl) ohne nachweisbare Beeinträchtigung des Nervensystems, des Blutes, des Körpergewichts sowie der Leber- oder Nierenfunktion (siehe Abb. 2). Bei R. S. HARRIS et al. vertrug der *Hund* sogar täglich 5 cm³/kg 14 Wochen lang ohne wesentliche Schädigung. Das sind Mengen, die selbst bei Nahrungsmitteln wie Glycerin und Olivenöl oder bei Genußmitteln wie Alkohol von Katzen — aber auch von Menschen! — bei täglicher Zufuhr nicht immer ohne Störungen vertragen werden.

Auch die *Ratten-Fütterungsversuche*, die an verschiedenen Stellen der Welt durchgeführt wurden (Literatur bei CARPENTER et al., MALLETTE

u. v. Haam (1); Wilson u. McCormick; Lefaux (1); Shaffer et al.; R. S. Harris et al.) zeigten die geringe Toxicität solcher Dicarbonsäureester und ihrer Spaltprodukte. In Versuchen von Bornmann, Loeser et al. vertrugen die Ratten von einigen der geprüften 5 Weichmacher (Dicyclohexylphthalat, Dibutylphthalat, Benzoyloctyladipat, Mesamoll und Polymer-Weichmacher PW 6351) 1—3 Jahre lang 2mal wöchentlich 0,5 cm³/kg ohne Änderung von Wachstum, Stoffwechsel, Blutbild oder

Tabelle 13

Produkt	Dosis cm³/kg	Anzahl der Dosen	Exitus[1]	Harnstoff mg-% im Blut[2]	Bromsulphth. retention %[2]
Diäthylhexyl-phthalat . .	2,0	4—5	+3/3	bis 451	—
	1,0	1—5	+5/5	bis 92	12
	0,5	24—50	+2/3	bis 109	o. B.
	0,2	50—51	0/2	o. B.	o. B.
Dinonylphthalat	2,0	2—14	+3/3	bis 98	bis 11
	1,0	3—26	+5/5	bis 238	bis 19
	0,5	50	0/2	o. B.	bis 14
Didecylphthalat	2,0	7—10	+3/3	o. B.	bis 16
	1,0	5—10	+4/4	o. B.	bis 26
	0,5	50	0/1	o. B.	12

Wiederholte perorale Verabreichung von Phthalsäureestern (in Olivenöl) an Kaninchen.

[1] Während des Versuches gestorbene/Gesamttierzahl.

[2] Methode siehe Legende zu Abb. 2.

der Fortpflanzung. Die Ratten von C. C. Smith vertrugen aber von Butylstearat 2 Jahre lang sogar Futter mit 6,5% bzw. Futter mit 1,25% Dibutylphthalat 1 Jahr lang ohne Schäden.

Wenn bei Beginn der Fütterungsversuche mit 1,25% Dibutylphthalat bei C. C. Smith, aber auch bei Bornmann u. Loeser relativ viele Ratten starben[1], so liegt das nach Barnes u. Denz sowie unseren eigenen Erfahrungen einmal daran, daß manche Ratten Futter mit einem so hohen Gehalt eines äußerst widerlich schmeckenden Fremdstoffes verweigern und lieber verhungern. Außerdem sind *Phthalsäureester* für Nagetiere, speziell für *Kaninchen, viel toxischer als für Katzen* [Hofmann u. Oettel (1)]. Bei Kaninchen können bereits Dosen von 0,5 cm³/kg bei wiederholter Applikation zu Leberfunktionsstörungen und tödlichen Nierenschädigungen führen (siehe Tab. 13).

Phthalsäureester werden vom Kaninchen offenbar anders abgebaut bzw. ausgeschieden als von Katzen, Hunden und auch vom Menschen.

[1] Die überlebenden Ratten zeigten gegenüber den Kontrolltieren keine Wachstumsbeeinflussung. Tumoren traten nicht häufiger auf als in den Kontrollgruppen (C. C. Smith).

Bereits 1945 zeigten Shaffer et al., daß nach der gleichen Dosis von Diäthylhexylphthalat (2 g/kg) Kaninchen 34—64% Phthalsäure erst im Verlauf einiger Tage, der Hund aber nur 4,5% innerhalb von wenigen Stunden ausschieden. Da auch beim Menschen nach Einnahme von 10 g Diäthylhexylphthalat, die nur milde Darmstörungen bewirkten, nur 4,5% Phthalsäure im Harn erschienen — und zwar innerhalb von wenigen Stunden — ist der Rückschluß vom Hund bzw. der Katze auf den Menschen berechtigter als der Rückschluß vom Kaninchen, bei dem der lange Blinddarm mit seiner bakteriellen Aufschließmöglichkeit besondere Verhältnisse schafft. Nach C. C. Smith wird Dibutylphthalat durch Pankreasenzym zwar ebenso schnell gespalten wie Triolein, beim Menschen scheint die Spaltung der langkettigen Phthalsäureester aber viel langsamer zu gehen, so daß der größte Teil den Magen-Darmkanal unverändert verläßt. Da außerdem von Shaffer et al. bei Ratten und Kaninchen keine an Glukuronsäure, Schwefelsäure oder Aminosäuren gebundene Phthalsäure im Harn nachgewiesen wurde, ist vielleicht auch eine mangelhafte Entgiftungsfähigkeit der Nagetiere verantwortlich für deren höhere Empfindlichkeit gegen Phthalsäureester.

Phthalsäure, die peroral akut weniger toxisch ist als Salicylsäure (Hofmann u. Oettel (1); Friebel et al.), soll — allerdings nach sehr alten Untersuchungen — auch vom Hund, nach Shemiakin u. Schukina sogar vom Menschen (nach subcutaner Injektion von 50 mg!) praktisch unverändert, jedenfalls nicht in Form von konjugierten Aminosäuren ausgeschieden werden (Literatur bei R. T. Williams). Sollte sich bei der Verwendung von weichgemachten Kunststoffen zur Lebensmittelverpackung zeigen, daß größere Phthalatmengen in das Nahrungsmittel übergehen, so wären noch genauere Untersuchungen über das Schicksal der Phthalate im Organismus notwendig.

Bei der *Herstellung* und *Verarbeitung* der Phthalsäureester in der Industrie sind keine Gesundheitsschädigungen beobachtet worden, abgesehen von einigen Überempfindlichkeitsreaktionen an der Haut sensibilisierter Menschen [Mallette u. v. Haam (1)]. Die Wirkung des Dimethyl- und Dibutylphthalats auf die menschliche Haut ist außerdem durch ihre weltweite Verwendung als „Insect Repellents" recht genau bekannt. Eine Schädigung durch solche Weichmacher *im täglichen Leben*, etwa durch *Gebrauchsgegenstände* aus Kunststoffen, ist nicht denkbar. Außerdem enthalten Kunststoffe, wie oben gezeigt wurde, nur ausnahmsweise Weichmacher.

D. Kunststoffe zur Lebensmittelverpackung

1. Prüfungsmöglichkeiten. Eine besonders scharfe Prüfung und eine sehr kritische Beurteilung *aller* biologischen Eigenschaften von Kunststoffen und ihren Zusätzen erfordert deren *bestimmungsgemäße*

Verwendung zum Aufbewahren oder Verpacken von Lebensmitteln. Hierbei handelt es sich allerdings in erster Linie um ein *chemisches* Problem: Grundsätzlich sollte aus Verpackungsmaterial *überhaupt kein Bestandteil* in das Lebensmittel übergehen, was durch entsprechende Extraktionsversuche und Analysen geprüft werden muß (Coppock). Diese Idealforderung wird aber nicht einmal von Glas, Papier oder Metallfolien erfüllt bzw. ihre scheinbare Erfüllung würde lediglich Ausdruck für die Unempfindlichkeit der Nachweismethoden sein. Sinnvoller ist also die Forderung, daß die aus dem Verpackungsmaterial gelösten geringen Substanzmengen den Inhalt weder im Geruch noch im Geschmack noch in irgendeiner anderen biologischen Eigenschaft verändern dürfen, wie es das neue Lebensmittelgesetz vorsieht.

Nach dem Entwurf zum neuen Lebensmittelgesetz[1] ist verboten: „die Verwendung von Bedarfsgegenständen" (dazu gehört Verpackungsmaterial!) „in der Weise, daß von ihnen fremde Stoffe auf die Lebensmittel oder ihre Oberfläche übergehen können, ausgenommen gesundheitlich unbedenkliche Spuren, die technisch nicht vermeidbar sind".

Leider gibt es noch keine *Richtlinien* für die Prüfung von Kunststoffen, nach denen ihre Eignung zur Lebensmittelverpackung objektiv und einheitlich feststellbar wäre. Setzt man voraus, daß eine „technisch nicht vermeidbare", also *nachweisbare* Menge eines löslichen Stoffes wenigstens in die oberflächlichste Schicht des verpackten Lebensmittels hereinkommen kann, so muß geprüft werden, ob die mit dem Lebensmittel überhaupt *zuführbare* Menge dieser Stoffe irgendwelche Gesundheitsschädigungen verursachen kann, wobei selbstverständlich alle bekannten „Gifte", Allergene und nachgewiesen (!) cancerogenen Substanzen (vgl. S. 114) ganz fernzuhalten wären.

Dieses Problem wurde neuerdings in den USA von der *Food and Drug Administration* aufgegriffen, die im Abstand von einigen Jahren bestimmte Kunststoffe, Weichmacher, Stabilisatoren usw. als „für Verpackungsmaterial geeignet" bzw. „ungeeignet" bezeichnet [Lehman (1, 2, 3 u. 4); Lehman u. Patterson; Robinson-Görnhardt]. Leider wird bei diesen Veröffentlichungen nicht angegeben, auf Grund *welcher physiologischer Voraussetzungen* diese Klassifizierung erfolgt; es wird lediglich festgestellt, daß die geeigneten Produkte „die Löslichkeits- oder Toxicitätsprüfung befriedigend bestanden haben müssen".

Die meisten der in der Liste genannten Kunststoffe sind wohl auf Grund des bestandenen „*Löslichkeitsexamens*" zur Lebensmittel-

[1] Entwurf eines Gesetzes zur Änderung des Lebensmittelgesetzes (Bundestagsdrucksache 2923 vom 28. 11. 1956). Gegenüberstellung der Fassung des Gesetzentwurfs, der Vorschläge des Bundesrates, der Stellungnahme der Bundesregierung und der Anregungen des Bundes für Lebensmittelrecht und Lebensmittelkunde e.V. Bundesverband der Ernährungsindustrie, Bonn, Am Hofgarten 16.

verpackung freigegeben worden. Denn von LEHMAN (2) wird recht genau angegeben, wie die Löslichkeit von Kunststoffolien, Kunststofflacken usw. in einigen Standardflüssigkeiten[1], die in ihrer Zusammensetzung der flüssigen Phase der wichtigsten Lebensmittel entsprechen sollen, vorzunehmen ist und welche Mengen noch gelöst werden dürfen.

LEHMAN, PATTERSON, DAVIDOW et al. berichten zwar auch über die verschiedenen bereits bekannten Methoden zur Prüfung der akuten und chronischen *Toxicität* von Nahrungsmittelzusätzen recht ausführlich (Übersetzung bei EICHHOLTZ). Was von den Autoren aber *nicht* angegeben wurde, ist das *Kriterium zur Beurteilung* so umfangreicher Toxicitätsversuche in ihrer praktischen *Auswirkung auf den Menschen* (Zur Kritik des „Sicherheitsfaktors" siehe S. 109).

Wenn SEELER u. Mitarb. Ratten und Hunden 2 Jahre lang eine Diät verabreichten, die 5% eines Mischpolymerisates aus Vinylchlorid und Vinylidenchlorid enthielt, ohne daß toxische Symptome auftraten, so zeigt das zwar die schon zu erwartende geringe Toxicität solcher unlöslichen Kunststoffe. Ob solche Versuche aber sinnvoll und ob sie für die Beurteilung der Eignung von Kunststoffen zur Lebensmittelverpackung notwendig und in anderen Fällen genügend sind, das ist eine andere Frage, da Kunststoffe dem Menschen nicht in seiner täglichen Nahrung verabreicht zu werden pflegen.

2. Zulassungslisten und Kriterien. Die von der Food and Drug Administration bis zum Jahre 1956 für die Lebensmittelverpackung als „geeignet" bezeichneten Kunststoffe samt ihren Begleitstoffen zeigen die Tab. 14 und 15. Besonders die Liste 14 entspricht nicht ganz der Originalveröffentlichung von LEHMAN, da diese einige unverständliche chemische Bezeichnungen und offensichtliche Druckfehler enthält, die sich zwar durch verschiedene Veröffentlichungen LEHMANS hindurchgeschlichen haben, deren Wiedergabe aber nur zu Mißverständnissen führen würde.

Nach diesen Veröffentlichungen sind einige Kunststoffe und Weichmacher zur Nahrungsmittelverpackung „wegen noch unzureichender Untersuchung" nicht geeignet. Trikresylphosphat wird allerdings wegen zu hoher Toxicität ganz abgelehnt, wobei aber auf das Problem des Orthokresyl-Gehaltes nicht eingegangen wird. Einige Weichmacher (Dicyclohexylphthalat, Dibutylphthalat, Methylphthalyläthylglykolat, Dioctyladipat, Dioctylsebacat, Dicaprylsebacat) „können vielleicht als in Zukunft geeignete Anwärter betrachtet werden". Mehrere Kunststoffe und Weichmacher der früheren negativen Liste finden sich jetzt unter den „geeigneten" Produkten, so daß vielleicht auch die „Anwärter" allmählich das Examen bestehen werden.

[1] 3% NaCl bzw. $NaHCO_3$, 1% Essigsäure bzw. Milchsäure, 20% Zuckerlösung, Fett, Pflanzenöl.

Tabelle 14. *Für Lebensmittelverpackungen* geeignete *Kunststoffe*
(Nach Food and Drug Administration, Department of Health and Education Welfare USA, 1954 und 1956)

1. Folien einschließlich Papierimprägnierung

Polyäthylen
Polystyrol
Polyvinylacetat
Polyvinylalkohol[2]
Polybutadienacrylnitril
Celluloseacetat
Regenerierte Cellulose
Kautschukhydrochlorid
Harnstoff-Formaldehydkondensate[1]
Melaminformaldehydpolykondensate[1]
Dimethylterephthalat-Äthylenglykol-Kondensat
Terephthalsäure-Äthylenglykol-Mischpolymerisat
Butadien-Styrol-Mischpolymerisat
Butadien-Acrylonitril-Styrol-Mischpolymerisat
Styrol-Isobutylen-Mischpolymerisat[1]
Dimethyl-polysiloxan-Polymerisat (Viskosität: 350 centistokes)[1]
Polyvinylchlorid
Polyvinylidenchlorid
Polyvinylchloridacetat
Polychlorbutadien[1]

2. Konservendosen-Lacke

Polyäthylen
Polystyrol
Vinylchlorid-Polymerisate und -Mischpolymerisate
Vinylpolymerisate („certain modified Vinyls"[3]
Polyesterharze
Polyvinylbutyral
Epoxyharze und Epoxyharzester
Phenolformaldehydharze („certain substituted . . ."[3])
Phenolharze („certain modified Phenols"[3])
Ölhaltige Alkydharze
Naturharze wie Kongokopale
Öllacke („Oleoresinous"[3])

[1] Für Papierimprägnierung.
[2] Da wasserlöslich, nur für fettige Nahrungsmittel.
[3] Es wurde versucht, diese ganz unbestimmten englischen Bezeichnungen sinnvoll auszudrücken.

Das Hauptproblem bei der Verwendung von Kunststoffen als Verpackungsmaterial bilden die etwa vorhandenen *Weichmacher* und *Stabilisatoren*. Die geringe Toxicität der heute gebräuchlichen Weichmacher vom Dicarbonsäureester-Typ wurde bereits dargelegt. „Technisch nicht vermeidbare Spuren" dieser Weichmacher sind nach den vorliegenden Tierversuchen wohl unbedenklich. Mit Barnes u. Denz glaube ich, daß dreimonatige Hunde- oder Katzenversuche mit genauer klinisch-chemischer Kontrolle der Tiere über die etwaigen Gefahren neuer chemischer Produkte sogar mehr aussagen als jahrelange Fütterungsversuche mit Ratten. Wie bereits S. 105 ausgeführt wurde, müssen gegebenenfalls noch eingehendere Untersuchungen über das Schicksal der

Phthalsäure und der Phthalate im tierischen und menschlichen Organismus durchgeführt werden, falls wider Erwarten größere Mengen der Phthalate in Nahrungsmittel übergehen sollten.

Einige Phthalsäureester, besonders Diäthyl- und Dibutylphthalat, schmecken übrigens so nachhaltig bitter, daß sogar Spuren davon das Lebensmittel ungenießbar machen würden. Der von CAGIANUT beschriebene „Vergiftungsfall" nach Einnahme von etwa 10 g angeblich Dibutylphthalat (Keratitis erosiva und Nephritis toxica) beruht sicher auf einem Irrtum. Es ist ausgeschlossen, daß jemand versehentlich als Abführmittel von dem widerlich schmeckenden Dibutylphthalat einen großen Eßlöffel voll einnimmt, ohne daß er seinen Irrtum bemerkt hätte. Wahrscheinlich wurde irgendeine andere geschmacklose Flüssigkeit eingenommen und später die falsche Flasche zur Analyse gegeben!

Auch unter den ungünstigsten Bedingungen können *aus Verpackungsmaterialien* stets nur *sehr kleine Mengen* des Weichmachers in das Nahrungsmittel hineinkommen. Extraktionsversuche von KASKIE mit Äthylhexyldiphenylphosphat („Santisicer 141") ergaben, daß aus Polyvinylchlorid — selbst durch fetthaltige Nahrungsmittel wie Schinken — nur ca. 5 bis höchstens 10% des Weichmachers im Laufe von Wochen extrahiert wird. Von C. C. SMITH wurde berechnet: Bei der Annahme, aus einer zur Fettverpackung benutzten Folie ginge der *gesamte* Weichmacher in das Nahrungsmittel und jemand verbrauchte davon täglich 1 kg, so würde die täglich aufgenommene Menge doch noch 1400mal kleiner sein als die von Ratten 2 Jahre lang täglich ohne Schädigung vertragene Dosis. Bei der viel wahrscheinlicheren Annahme, daß höchstens 10% des Weichmachers aus der Folie in das Nahrungsmittel kommen, wäre der „Sicherheitsfaktor" sogar höher als 14000, während nach allgemeiner Auffassung (FRAZER; TOLLENAAR et al.; FITZHUGH) für Lebensmittelzusätze ein *Sicherheitsfaktor von 100*[1] genügt.

Gegen die Berechnung solcher „*Sicherheitsfaktoren*" aus Rattenversuchen bestehen freilich erhebliche Bedenken. Wie LANG zeigte, haben manche „gesundheitlich unbedenkliche" Stoffe wie Vitamin C und Traubenzucker bereits einen viel kleineren Sicherheitsfaktor als 100! So leicht errechnen läßt sich also die gesundheitliche Unbedenklichkeit eines Lebensmittelzusatzes nicht.

Auch bei den nur in geringen Konzentrationen in Kunststoffen vorhandenen *Stabilisatoren* muß die Abwesenheit gesundheitsgefährlicher Mengen am oder im Lebensmittel zunächst durch *chemische* Analyse nachgewiesen werden.

Unter den von der Food and Drug Administration freigegebenen Stabilisatoren (Tab. 15, S. 110) befinden sich die am häufigsten benutzten

[1] „Als sicher gilt ein Produkt nur, wenn die in langdauernden Fütterungsversuchen maximal vertragene Menge wenigstens 100mal größer ist als die Menge, die in der gesamten menschlichen Nahrung vorkommt" (LEHMAN u. NELSON, 1956, S. 155).

Zusatzstoffe. Daß Stabilisatoren, die Blei, Cadmium usw. enthalten (siehe Tab. 9, S. 86), zur Lebensmittelverpackung *nicht* in Frage kommen, ist selbstverständlich. Ein besonderes Problem bieten die *Zinnstabilisatoren*, da einige organische Zinnverbindungen nach den

Tabelle 15. *Für Lebensmittelverpackungen* geeignete *Kunststoff-Zusatzstoffe*
(Nach Food and Drug Administration, Department of Health and Education Welfare USA, 1954 und 1956)

1. Weichmacher

2-Äthylhexyldiphenylphosphat	Äthylphthalyläthylglykolat
Diäthylphthalat	Butylphthalylbutylglykolat
Di-2-äthylhexylphthalat[1]	
Diisooctylphthalat[1]	
Butylstearat	Monoisopropylcitrat
Glyceromonoleat	Triäthylcitrat
Dibutylsebacat	Acetyltriäthylcitrat
Diisobutyladipat	Stearylcitrat, Acetyltributylcitrat
Glycerintriacetat	
p-Tertiär-Butylphenylsalicylat	Paraplex G-60[2a]
3-(2-Xenoxyl)-1,2-epoxypropan	Paraplex G-62[2b]

2. Stabilisatoren

Ammonium-Kaliumphosphat	
Natriumpyrophosphat	
Natriumtetrapyrophosphat	
Kalium-, Natrium-, Ammoniumcitrat	
Calciumacetat	Calciumäthylacetoacetat-acetat
Calciumstearat	Calciumglycerophosphat
Calcium-mono-, -di- und -tri-phosphat	
Calciumoleat	Calciumrinoleat
Magnesium-stearat	Magnesiumglycerophosphat
Magnesium-mono-, -di- und -triphosphat	
Dinatriumphosphat	
Aluminiummonostearat	
Zinnstearat	

„Anorganische Salze von Kupfer, Mangan und Zink, Zinkstearat und Zinkresinat sind für Lebensmittelverpackungszwecke erlaubt, wenn sie den Metallgehalt des Lebensmittels auf nicht mehr als 50 ppm erhöhen."

[1] Nur für Wasser enthaltende Nahrungsmittel, nicht für Fett, zulässig aber für Milch und für intravenöse Katheter.

[2] Konstitution nicht genau bekannt. a: Mischkondensat einer 2wertigen Säure und eines 2wertigen Alkohols, der gleichzeitig noch Epoxy-Gruppen enthält. b: Epoxyliertes Sojaöl mit Glycerin verestert.

Erfahrungen in der Industrie bei der Verarbeitung (siehe S. 99) und aus den Erfahrungen bei der Therapie von Staphylokokken-Erkrankungen (tödliche Stalinon-Vergiftungen in Frankreich! (Rouzaud u. Lutier) außerordentlich toxisch sind. Wie die Tab. 15 zeigt, wurde aber *Zinnstearat* von der Food and Drug Administration für Lebensmittel-

verpackungen sogar *ohne Einschränkung der Konzentration* freigegeben, während bei *Zink* das verpackte Nahrungsmittel nicht mehr als 50 mg-% enthalten darf.

Die von der Food and Drug Administration veröffentlichten Listen der zur Verpackung von Lebensmitteln „geeigneten" Kunststoffe und ihrer Zusatzstoffe können also nur als allgemeine Richtungsweiser, keineswegs aber als wissenschaftlich fundierte, unerschütterliche Grundlage betrachtet werden. Ob die durch Lebensmittel aus dem Verpackungsmaterial extrahierten, analytisch zu bestimmenden Spuren irgendeines chemischen Stoffes als „gesundheitsunbedenklich" bezeichnet werden können, das wird in jedem Einzelfall der Pharmakologe oder Toxikologe in eigener Verantwortung nach den *biologischen Gesamteigenschaften* jedes einzelnen Stoffes zu entscheiden haben (Lendle; Schulemann). Zu begründen ist eine solche Entscheidung stets mit ausreichenden, kritisch auswertbaren Tierversuchen, die die verantwortungsbewußte chemische Industrie von jeher in eigenen oder fremden biologischen Instituten durchführen läßt [Oettel (5)]. In der Anwendung solcher chemisch und toxikologisch genau *geprüfter Kunststoffe als Verpackungsmaterial* liegen nach menschlichem Ermessen *keinerlei Gesundheitsgefahren*, geschweige denn, daß von einer „Vergiftung" unserer Lebensmittel (Eichholtz) gesprochen werden könnte! Erwünscht wären aber *Richtlinien* zur objektiven und einheitlichen Prüfung von Lebensmittelverpackungsmaterialien unter Einbeziehung bekannter *Standardsubstanzen* (vgl. S. 90).

Leider wird die *sensorische Beeinflussung* der Lebensmittel von den Herstellern der Verpackungsmaterialien nicht immer genügend berücksichtigt. Empfindliche Geschmacks- oder Geruchsnerven können nicht selten in kunstvoll verpackten Lebensmitteln die mehr oder weniger dezenten Grüße der synthetischen Chemiker wahrnehmen. *Gesundheitliche Schädigungen* können dadurch zwar ebensowenig verursacht werden wie durch Spuren von Chlor, Phenol oder Petroleum, die Trinkwasser oder Lebensmittel nicht gerade schmackhafter machen. Es wäre aber zu begrüßen, wenn die Lebensmittelverpacker in Zukunft auch die etwaige *geschmackliche Beeinflussung* von Lebensmitteln durch eingehendere sensorische Prüfung ihrer Materialien vermeiden würden.

3. „Cancerogenität" von Chemikalien-Spuren? Geht man freilich von der Vorstellung aus, daß kleinste, *unterschwellige* Dosen vieler Stoffe durch „Summation" einer unfaßbaren Wirkung nach Jahrzehnten zu schweren Schäden und sogar zu Krebs führen können [Druckrey (1)], dann wären auch solche Chemikalien-Spuren als „gesundheitlich nicht unbedenklich" zu bezeichnen, solange nicht nachgewiesen wurde, daß die fraglichen Stoffe keine „Summationsgifte" sind.

Dieser Nachweis kann von der experimentellen Pharmakologie nicht erbracht werden, denn bisher wurde für noch keine Substanz — auch nicht für das berüchtigte Buttergelb (Druckrey u. Kupfmüller) — durch einwandfreie pharmakologische Methoden eine „Summationswirkung" unterschwelliger Dosen bewiesen. Zur Zeit ist es noch nicht einmal möglich, nachzuweisen, daß irgendein Chemikal oder Naturprodukt für den Menschen *cancerogen* oder *sicher nicht cancerogen* ist, es sei denn

Tabelle 16

Produkte	Zahl der subcutanen Injektionen	Bisherige Beobacht.-zeit Monate	Tumoren/ Gesamt-Tierzahl	Lokalisation der Tumoren
Indigotin I	55	>30	1/20	Axilla
Chinolingelb extra	55	>30	1/20	Eierstock
Gelborange S	55	>30	1/20	Eileiter
Traubenzucker-lösung, 50%ig	55	>30	4/20	Peritoneum; Lymph-knoten i.p.; Kopf und Injektionsstelle
Kochsalzlösung 0,9%ig	50	17	5/20	Netz; Leber; Lunge; Leistengegend, lks. und Hypophyse
Kontrolle unbehand.	0	>30	2/20	Mesenterium; Magenwand

durch die Erfahrung am Menschen selbst (Salter). Die Forderung des Nachweises einer fehlenden Cancerogenität *unterschwelliger Dosen* im Tierversuch ist also wissenschaftlich nicht begründet.

Irreführend ist die Prüfung von Nahrungsmittelzusätzen oder Verunreinigungen („technisch nicht vermeidbare Spuren"!) auf ihre etwaige cancerogene Wirkung durch monatelang fortgesetzte, 2mal wöchentliche *subcutane Injektion* der fraglichen Substanz immer an der gleichen Stelle der Ratte. Bei solchen Injektionsversuchen scheinen auch Olivenöl, Sesamöl, Cholesterin, Traubenzucker und andere harmlose Stoffe „cancerogen" [Literatur bei Umeda, Nothdurft (4), Bauer (2), Walpole et al., Domagk, Goldenberg].

Auch in eigenen Versuchen bekamen nach wiederholter subcutaner Injektion einer 50%igen Traubenzucker- bzw. Kochsalzlösung 4 bzw. 5 von 20 Ratten Tumoren (siehe Tab. 16), dabei ein *Sarkom*[1] *an der Injektionsstelle* (siehe Abb. 3, S. 113). Bei 3 verschiedenen, in der gleichen Weise geprüften Lebensmittelfarbstoffen entstand dagegen jeweils höchstens ein Tumor. Traubenzucker und Kochsalz müßten also nach diesem Test als „stärker cancerogen" bezeichnet werden als die geprüften synthetischen Farbstoffe! Uns erscheinen diese Versuche nur als Beitrag

[1] Nach der histologischen Untersuchung von Prof. G. Schallock, Städt. Krankenanstalten Mannheim, handelt es sich einwandfrei um ein Spindelzellsarkom der gleichen Art wie Abb. 9, S. 122

zur Häufigkeit von Spontantumoren bei alten Versuchstieren, die in derselben Größenordnung liegt, wie sie von SHUBIK (S. 730) angegeben wurde. Signifikante Unterschiede könnten nur festgestellt werden bei *viel größeren* Tiergruppen, die *zur gleichen Zeit* angesetzt werden müßten.

Bei der *Bildung lokaler Sarkome* nach fortgesetzten subcutanen Injektionen könnte ein ähnlicher Mechanismus eine Rolle spielen (SHUBIK), wie ihn NOTHDURFT bei der Sarkomentstehung nach der Implantation von Folien annimmt: Abkapselung des immer an der gleichen Stelle injizierten Materials (siehe S. 119). Wenn in Tierversuchen

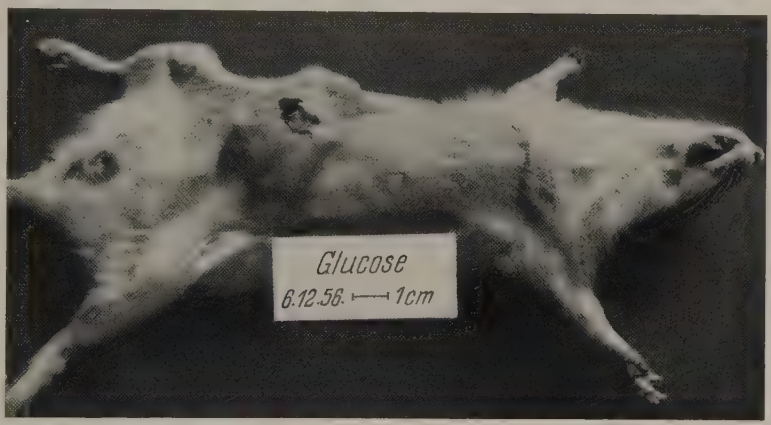


Abb. 3. Subcutanes Spindelzellensarkom bei einer Ratte, an der Injektionsstelle nach 55maliger subcutaner Injektion einer 50%igen Traubenzuckerlösung entstanden (1. Tastbefund: 2 Jahre nach Versuchsbeginn; Überlebenszeit: 26 Monate)

Olivenöl und Traubenzucker „cancerogen" erscheinen, so dürfte es an der Zeit sein, solche Teste durch sinnvollere Tierversuche zu ersetzen, die uns rechtzeitig vor den *wirklichen* Gefahren beim Umgang mit neuen chemischen Produkten warnen.

Mit Recht wendet sich auch der — sonst als überaus vorsichtig bekannte — Chefpharmakologe des Amerikanischen Gesundheitsamtes, A. J. LEHMAN, gegen eine solche Definition der „Cancerogenität" von Nahrungsmittelzusätzen mit folgenden Worten (LEHMAN u. NELSON):

„Wenn eine Substanz als cancerogen bezeichnet wird, sofern sie ein Neoplasma bei Versuchstieren erzeugt, ohne Rücksicht auf den Wirkungsgrad, die Applikationsweise, die notwendige Dosis und die Reaktionszeit, dann würde allerdings für einige Chemikalien, die in Amerika Nahrungsmitteln zugesetzt werden dürfen, diese Definition zutreffen. Wir glauben allerdings nicht, daß ein Carcinogen so richtig definiert werden kann. Die Tatsache, daß ein Stoff z. B. bei subcutaner Injektion irgendeinen Tumor verursacht, kann dieses Produkt nicht von einer Verwendung ausschließen, bei der es ausschließlich auf dem Nahrungsweg in den Körper gelangt. Bei unserer Beurteilung der chronischen Toxicität wird die Zahl der beobachteten Tumoren, die erforderliche Zeit und Dosis sehr sorgfältig berücksichtigt. Wenn bei der Fütterung von Tieren mit der fraglichen Substanz ein signifikantes Überwiegen

der Tumorrate über die der Kontrolltiere festzustellen ist, sprechen wir erst den Verdacht der etwaigen Cancerogenität aus. Aber selbst unter diesen Umständen darf man nicht den Schluß ziehen, daß ein Chemikal, das bei einer Tierart auf einem Zufuhrweg Tumoren erzeugt, auch bei einer anderen Zufuhrart Tumoren bei der gleichen Tierart erzeugt, oder aber daß es notwendigerweise auch cancerogen für andere Tierarten sei. Positive Befunde können also höchstens ein Chemikal in den Verdacht bringen, daß es vielleicht für den Menschen cancerogen wirken könnte, aber sie beweisen niemals, daß solche Substanzen cancerogen sind."

Stoffe, die in *Fütterungsversuchen* bei irgendeiner Tierart Krebs oder krebsähnliche Erkrankungen in *signifikant höherer Zahl* hervorrufen als bei den zu *gleicher* Zeit angesetzten *Kontrolltieren* dürfen selbstverständlich *nicht bestimmungsgemäß* mit Nahrungsmitteln in Berührung kommen. Zur Beurteilung der wirklichen Gesundheitsgefahren bei der Verwendung von Produkten, deren fehlende „cancerogene Wirkung" nicht an Ratten bewiesen wurde, müssen aber folgende gewerbetoxikologischen Erfahrungen berücksichtigt werden:

Daß beim Menschen Krebs *chemisch* verursacht sein kann, das wurde beim *gewerblichen* Umgang mit bestimmten Naturprodukten und Chemikalien zweifelsfrei erkannt (Rehn; Gross; Pfeil; Case et al.). Die Beobachtung von *Berufskrebsen* durch kritische Werksärzte war ja erst die Voraussetzung für die zahllosen Tierexperimente, die im Anschluß daran den Mechanismus der chemischen Tumorentstehung zu klären versuchten (Yamagiwa u. Ichikawa; Kennaway et al.).

Leider wird über den Hekatomben von Versuchstieren und den Hunderten von Stoffen, die bei irgendeiner Tierart irgendeinen Tumor erzeugen (Hartwell), vergessen, *wie selten beim Menschen Krebs auf chemischem Wege* entsteht.

In Deutschland sterben jährlich etwa 80000 Menschen an Krebs, innerhalb der ersten 50 Jahre dieses Jahrhunderts sind in Deutschland also etwa 4 Millionen Menschen an Krebs gestorben. *Beruflich* bedingt, und zwar durch *chemische* Einflüsse entstanden, waren davon aber nachweislich *weniger als 500 Fälle*, nämlich:

weniger als	350 Blasenkrebse
weniger als	90 Chromatkrebse
weniger als	10 Arsenkrebse
weniger als	10 Asbestkrebse
weniger als	10 Teerkrebse

also weniger als 470 chemisch bedingte Berufskrebse.

Abgesehen davon, daß ein Teil der Blasenkrebsfälle nur Erkrankungsfälle und keine Todesfälle sind — also gar nicht in die Todesfallstatistik gehören — wurden die Zahlen auch im übrigen stark nach oben abgerundet, um den Fehler der etwa nicht erkannten chemischen Berufskrebse auszugleichen, beim Teerkrebs um mehr als eine Zehnerpotenz, denn es ist kein tödlicher Teerkrebs bekannt geworden. In der Zahl 500

sind außerdem bereits einige *nicht berufsbedingte* Arsenkrebse mitgezählt worden [Oettel (6)].

Von 10000 Krebstodesfällen war also höchstens einer chemisch verursacht. Die Mehrzahl der Berufskrebse trat überdies *im Anfang* dieses Jahrhunderts auf (Gross), ehe als Ursache für die gewerblichen Blasenkrebse aromatische Amine, wie β-Naphthylamin und Benzidin — besonders durch die Versuche an Hunden [Hueper et al.; Bonser et al.; Spitz et al.] — erkannt wurden, ehe man sich also gegen solche Stoffe schützen konnte.

Es ist falsch, von einer *ständig wachsenden Zunahme* der krebserregenden Stoffe oder von der ständig wachsenden Zunahme des Berufskrebses [Bauer (3)] zu sprechen. In Deutschland *fällt* sogar die Zahl der chemischen Berufskrebse von Jahr zu Jahr. In Anbetracht der seit 1900 sicher um *Zehnerpotenzen angestiegenen* Zahl von chemischen Substanzen und von Menschen, die gewerblich mit Chemikalien in Berührung kommen, müßten aber *viel mehr* Berufskrebse auftreten, wenn die *chemische* Genese des Krebses für den Menschen eine *wesentliche* Bedeutung hätte.

Der Gewerbetoxikologe kann daraus nur den Schluß ziehen, daß *chemisch* verursachte Krebse beim Menschen *sehr selten* sind. Wenn zur Erklärung der Krebshäufigkeit des Menschen starr nach cancerogenen Chemikalien in der Umgebung des Menschen und besonders in seiner Nahrung gesucht wird, so ist das nur der Ausdruck für die einseitige Überwertung bestimmter *Tierversuche.*

Fieser stellte schon 1945 beim Krebskongreß der American Association for the Advancement of Science fest (zitiert nach Salter): „Es muß erst noch bewiesen werden, ob die Ergebnisse, die bei Mäusen, Ratten und Meerschweinchen erhalten werden, überhaupt irgendeine grundsätzliche Bedeutung für das wirkliche Problem haben, das einzige wirkliche Problem das uns interessiert, den *menschlichen Krebs.*" Dieser Satz gilt auch heute noch. Unkritische Berichte über die angeblich wachsende Zahl von krebserzeugenden Substanzen bewirken bei der Allgemeinheit nur unnötige *Krebsangst,* die wissenschaftlich *nicht* begründet ist.

E. Kunststoffe in der Chirurgie und die „cancerogene" Wirkung von Kunststoffen

Der überzeugendste Beweis für die Ungefährlichkeit und Reizlosigkeit der auspolymerisierten, monomerenfreien Kunststoffe wurde von chirurgischer Seite direkt am Menschen erbracht durch Implantation verschiedener Kunststoffe wie *Polymethylmethacrylat, Polyäthylen und Polyamiden.* Zunächst hatte man sich von der Verträglichkeit dieser Kunststoffe für die *äußere* Haut und Schleimhaut bei der Benutzung

als Prothesenmaterial überzeugen können (Literatur bei Heinze u. A. Müller). In Tierversuchen war außerdem festgestellt worden, daß diese hochpolymeren, festen Produkte durch die Fermente des Körpers nicht abgebaut werden und daß sie infolge ihrer „Gewebsfreundlichkeit" besser „einheilen" als die bisher für die gleichen Zwecke benutzten Naturstoffe einschließlich der Metalle.

Daß die „Kunststoffe" hier wirklich nur ein sehr unvollkommener „Ersatz" für die natürlichen Knochen, Gelenkkapseln, Bänder, Sehnen, Gefäße usw., also letzten Endes nur „innere Prothesen" sind, ist selbstverständlich. Eben wegen ihrer Reizlosigkeit werden aber die Kunststoffe von den Chirurgen lieber benutzt als andere Fremdkörper (Heinze; Cibis; Cibis u. Kimmig; Linder u. Schwaiger; Ridley; Anstett; Petrina u. Marcadante).

Aus der Verträglichkeit der *auspolymerisierten* Kunststoffe darf allerdings nicht geschlossen werden, daß auch die *Bausteine* dieser Makromoleküle reizlos wären. Wie oben gezeigt, gibt es unter den *Monomeren* äußerst reaktionsfähige, auch biologisch sehr wirksame Moleküle. Der Wunsch mancher Ärzte nach einem Kunststoff, der — als monomeres oder halbpolymeres flüssiges Produkt eingespritzt — im menschlichen Gewebe zwecks Plastik von Nase oder Brust reizlos polymerisieren soll, ist ebenso kühn wie unerfüllbar.

Obgleich die chirurgisch benutzten Kunststoffe für die Säfte des menschlichen Organismus ebenso schwer angreifbar sind wie Edelmetalle, konnte doch eine gewisse, allerdings sehr langsame *Veränderung* mancher Kunststoffe *im Körper* beobachtet werden. Bei Polyamidfäden, die monatelang implantiert waren, konnten wir eine Veränderung der Struktur in Form einer von außen nach innen fortschreitenden *Anfärbbarkeit* und Brüchigkeit der einzelnen Polyamidfibrillen mikroskopisch feststellen (Abb. 4). Ähnliches wurde von Augustin u. Schulze-Brüggemann u. Striezel beschrieben. Ob der Kunststoff dabei wirklich „angedaut" wird, ist fraglich. Vielleicht ist die Hämatoxylin-Anfärbbarkeit nur ein Ausdruck dafür, daß sich irgendwelche körpereigenen Stoffe (Phenole?) allmählich im Kunststoff lösen bzw. anreichern, da die gleiche Veränderung eintritt, wenn Polyamidfäden mit Phenol behandelt werden (Oettel-Wilhelm). Daß diese Veränderung der implantierten Kunststoffe — die Oppenheimer et al. (1) auch aus der Ausscheidung radioaktiver Materialien nach der Implantation markierter Kunststoffe zu erkennen glauben — irgendeine biologische Bedeutung hat, ist kaum vorstellbar. Beim Menschen wurden jedenfalls nach der Implantation von Kunststoffen trotz ihrer ausgedehnten chirurgischen Anwendung nie Schädigungen geschweige denn bösartige Reaktionen beobachtet [Literatur bei Hecht (2); Heinze; Müller u. Littan; Schubert u. Uhlmann; Mohr (2); Pangman u. Wallace], abgesehen von Drucknekrosen

bei ungenügender Berücksichtigung der physikalischen Verhältnisse (Linder u. Schwaiger).

Um so überraschender waren die Berichte amerikanischer und später auch anderer Autoren über die „cancerogene Wirkung" von Kunststoffen im Tierversuch.

Die ernste Frage der etwaigen krebserzeugenden Wirkung von Kunststoffen interessiert in erster Linie den *Chirurgen*, der solche Stoffe

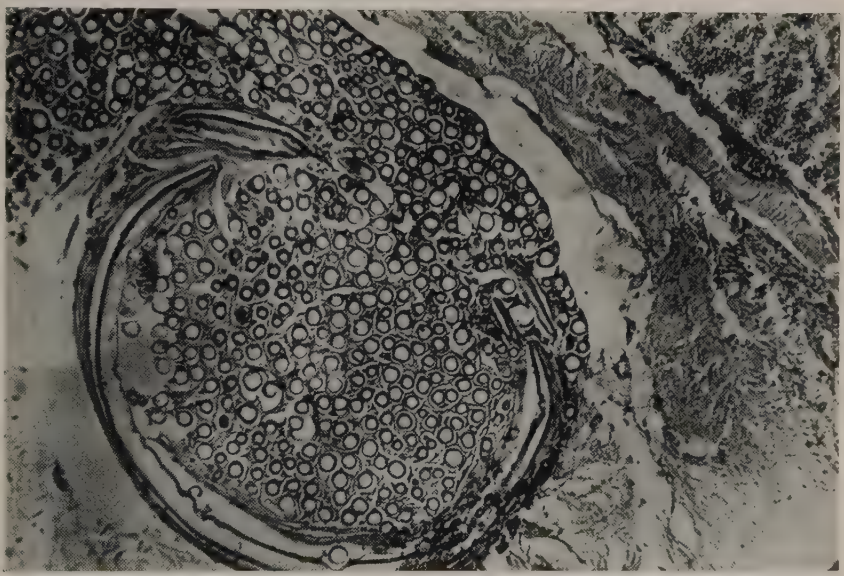


Abb. 4. Supramidfaden aus Fasciennaht nach 15monatiger Implantation bei der Ratte. Querschnitt. An umschriebener Stelle Ruptur des Fadenmantels mit Austreten von Einzelfibrillen. Ringförmige Anfärbung der Einzelfibrillen und des Fadenmantels. Einsprossen von zellarmem, jugendlichem Bindegewebe

zu Implantationszwecken benutzt. In Anbetracht der ständig *wachsenden Krebssterblichkeit* muß aber darüber hinaus geklärt werden, ob womöglich der Gebrauch von Kunststoffen *im täglichen Leben* eine Gesundheitsgefährdung in dieser Richtung bedeutet. Deswegen muß auf die tierexperimentellen Unterlagen für die „cancerogene Wirkung" von Kunststoffen näher eingegangen werden, zumal diese Implantationsexperimente *grundsätzliche Erkenntnisse* über die Ursachen bösartiger Tumoren bei Ratten — und vielleicht auch beim Menschen — gebracht haben.

Bei *Experimenten an Ratten*, deren Nieren zur Hypertonisierung mit einer Folie aus Hydratcellulose bzw. Polymethacrylat umgeben waren, beobachteten B. S. u. E. T. Oppenheimer in USA und Zollinger in der Schweiz unabhängig voneinander das Auftreten von Sarkomen, die bereits 1941 von Turner nach der Implantation von Bakelitscheiben

gesehen worden waren. Während Zollinger die Sarkombildung *mechanisch* — durch Druckanämie — erklärte, dachte Oppenheimer zunächst an etwaige *cancerogene Weichmacher*, stellte dann aber fest [Oppenheimer et al. (2 u. 4)], daß auch chemisch *reine* Folien aus Polyäthylen, Polyvinylchlorid oder Hydratcellulose Sarkome bei Ratten — seltener bei Mäusen — verursachen.

Oppenheimers Versuchsergebnisse wurden unter anderem (Laskin et al.) von Druckrey u. Schmähl (1) (1952) mit 13 Sarkomen durch Hydratcellulosefolien bestätigt, wobei Druckrey zugleich eine Vorstellung über den *cancerogenen Wirkungsmechanismus* von Kunststoffen (durch Wasserstoffbrücken usw.) entwickelte. Die auf Grund dieser *Nebenvalenz-Hypothese* [Druckrey-Schmähl (2)] geforderte cancerogene Wirkung von Polyamidfolien konnte Druckrey selbst durch 4 Rattensarkome bestätigen, weswegen er vorschlug, zur Implantation beim Menschen nur Kunststoffe zu benutzen, die sich im Tierversuch als nicht cancerogen erwiesen haben [Druckrey (2)].

Oppenheimer u. Druckrey hatten zwar selbst beobachtet, daß implantierte *Gewebe* aus dem gleichen Material *keine* Tumoren verursachen, sie legten aber dieser Beobachtung offenbar keine Bedeutung bei, obgleich eigentlich schon dieser Befund *gegen* die Nebenvalenz-Hypothese sprach.

Nicht nur in der Toxikologie, sondern erst recht in der Krebsforschung sind Rückschlüsse von Tierexperimenten mit neuen chemischen Produkten auf die wahrscheinliche Wirkung beim Menschen nur möglich, wenn *Standardsubstanzen* von bekannter Wirkung am Menschen unter den gleichen Bedingungen am Tier geprüft werden [Oettel, Wilhelm (1)]. Es ist das Verdienst von Hecht, diesen für die Bewertung der angeführten Tierexperimente so wichtigen Schritt als erster getan zu haben. Hecht (2) konnte zeigen, daß nach der Implantation von *Goldfolien* bei Ratten die gleichen Sarkome auftreten wie durch Kunststoffolien, was auch wir in unserem Tumorlabor bestätigen konnten.

In sehr kritisch angelegten Versuchen an über 2000 Ratten und Mäusen prüfte Nothdurft 3 Kunststoffe — Hydratcellulose, Polyvinylchlorid und Polystyrol — in Form von Folien (Durchmesser etwa 1,7 cm), Kugeln, Fäden und Pulvern, wobei gleich 4 Standardsubstanzen mitgeführt wurden, deren Wirkung am Menschen seit Jahrhunderten bekannt ist (Gold, Silber, Platin und Elfenbein), mit dem Ergebnis:

Ganz unabhängig von der *chemischen* Struktur der implantierten Materialien wurden bei Ratten Sarkome erzeugt, und zwar jeweils:

durch Folien	etwa 80%
durch perforierte Folien	etwa 50%
durch Kugeln und Fäden	etwa 37%
durch Pulver	< 1%

Die untersuchten Pulver mit der *größten Oberfläche*, also der größten *chemischen* Reaktionsfähigkeit, veranlaßten überhaupt nur ein einziges Sarkom. Bei allen Implantatformen bestand zwischen der tumorerzeugenden Wirkung von Edelmetallen, Elfenbein oder den Kunststoffen trotz ihrer ganz *verschiedenen chemischen Struktur kein signifikanter Unterschied*.

Niemand wird nun Gold als „cancerogen" für den *Menschen* bezeichnen wollen, nachdem beim Menschen bisher — trotz der fast lebenslänglichen Einwirkung von Goldkronen auf das Zahnfleisch oder des Traurings auf immer die gleiche Stelle der äußeren Haut — kein Fall von „Goldkrebs" beobachtet wurde.

Warum Ratten die Implantation von untoxischen, völlig reizlosen Folien von Gold, Elfenbein oder Kunststoffen mit Sarkomen beantworten, das ist eine ganz andere Frage. Nothdurft vermutet, daß die schlechte Durchblutung der *Bindegewebskapsel*, die den reizlos „einheilenden" Fremdkörper umgibt, im Sinne der Warburgschen Sauerstoff-Mangel-Theorie Ursache der bösartigen Entartung ist. Diese *schlechte Sauerstoffversorgung* kann bei den so verschiedenstofflichen Implantaten nicht chemisch, sie muß *physikalisch* bedingt sein. Die Gefäßversorgung und Durchblutung ist aber bei dem Versuch des Körpers, eine große Folie durch Abkapselung — bzw. durch den Versuch einer Endothelbildung — zu entfernen, naturgemäß schlechter als beim Umwachsen kleinerer Fremdkörper.

Interessanterweise konnte von Oppenheimer u. Mitarb. (3) in einer neueren Arbeit gezeigt werden, daß sich nach Ausbildung dieser Kapsel auch bei späterer *Entfernung* der implantierten *Folien* die gleichen Sarkome im Laufe der nächsten Monate entwickeln. Wurde aber auch die den Fremdkörper umgebende *Kapsel* etwa ein halbes Jahr nach der Implantation entfernt, so entstanden *keine* Sarkome. Der physikalisch bedingte Sauerstoffmangel scheint also für die — zur Beseitigung des reizlosen Fremdkörpers *auswachsenden* — in lebhafter Teilung befindlichen Zellen (bei ihrem Versuch ein Endothel zu bilden?) viel größere Bedeutung zu haben als der Sauerstoffmangel für *ruhende* Zellen, da die bösartige Entartung nach den Versuchen von Oppenheimer ja bereits bei der *Bildung* dieser Kapseln aufgetreten sein muß.

Ratten bekamen übrigens in unseren Versuchen (Oettel, Wilhelm) sogar nach der langdauernden *Berührung* mit luphenisierten (kunststoffüberzogenen) oder verzinkten Drahtkäfigen Tumoren der hinteren Extremitäten, die anfangs entzündlich und bei Beseitigung des Reizes teilweise reversibel waren, die aber bisweilen zu monströsen Formen wuchsen, ulcerierten und schließlich bösartig wurden (siehe Abb. 5—9, S. 121—122). Bei der histologischen Untersuchung[1] der Tumoren wurden

[1] Für die histologische Untersuchung und Beurteilung sprechen wir auch an dieser Stelle Prof. Schallock-Mannheim unseren Dank aus.

neben reinen Hyperkeratosen (also gleichsam beginnenden „Hühneraugen") entzündete Schleimbeutel gefunden, die sarkomatös entarteten. Ähnliche Tumoren beobachtete Nothdurft bei chronischen Rattenversuchen. Auch R. S. Harris et al. berichteten über Tumoren der hinteren Extremitäten bei Ratten, die 2 Jahre in Versuchskäfigen gesessen hatten; es soll sich in diesem Falle um *Fibroliposarkome* gehandelt haben. Nach Schallock kommen Tumoren auf dem Boden einer Bursitis beim Menschen außerordentlich selten vor, Tumoren im Anschluß an Hühneraugen sind nicht bekannt. Im Gegensatz zum Menschen scheinen also Ratten einen milden Dauer-Druckreiz leicht mit Tumorwachstum zu beantworten.

Abb. 5 — 9: Veränderungen am Tarsus von Ratten, die bis zu 2 Jahren in Drahtkäfigen gehalten wurden

Abb. 5. Tumorartige Bildung am Tarsus der hinteren Extremität

Zur Erklärung der Häufigkeit von bösartigen Tumoren bei der Ratte nach langdauernden Druckreizen, zu denen auch die wiederholte Injektion von Öl- und Traubenzuckerlösungen usw. gehört (vgl. S. 112), muß man wohl außerdem das Vorhandensein embryonal verstreuter, fehlgebildeter Zellnester — nach Delbrück „Zellen mit falscher Information", nach Stanley „Zellen mit angeborener Virusinfektion" — annehmen. Dadurch würde es verständlich, daß die gleichen unspezifischen Reize — durch Anregung des Wachstums dieser primär degenerierten Zellhaufen — bei den mehr oder weniger degenerierten Inzuchtstämmen von Laboratoriumsratten und -mäusen in qualitativ und quantitativ verschiedener Weise bösartige Tumoren erzeugen können (unterschiedliche „Tumorbereitschaft"). Die Folien-Implantationsversuche an Ratten zeigen jedenfalls, daß im Tierversuch zumindesten *ein wesentlicher Faktor* für das Wachstum bösartiger Tumoren physikalisch und *nicht chemisch* ist, was Zollinger schon bei seinen Rattensarkomen nach Implantation von Kunststoffolien vermutet hatte (siehe S. 118).

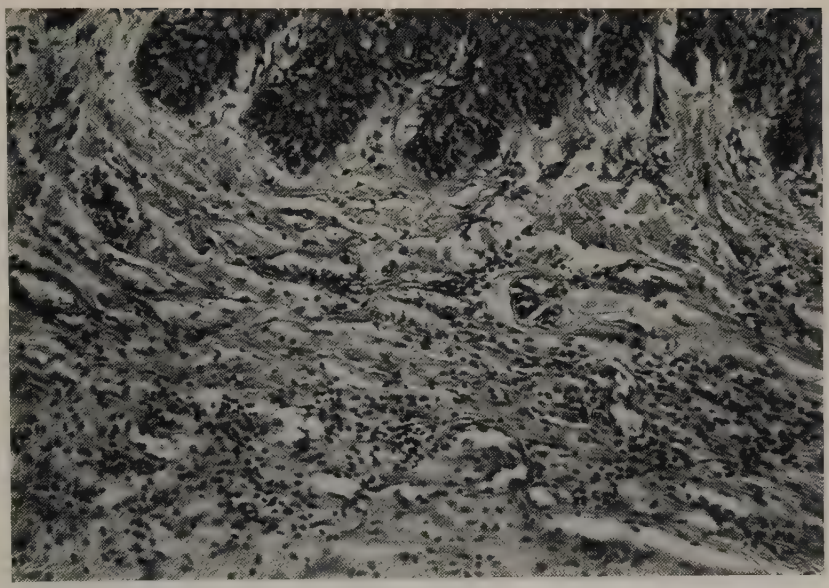


Abb. 6. Epithelhyperplasie, Entzündung im Bindegewebe mit Gefäßerweiterungen (Clavus 1. Stadium)

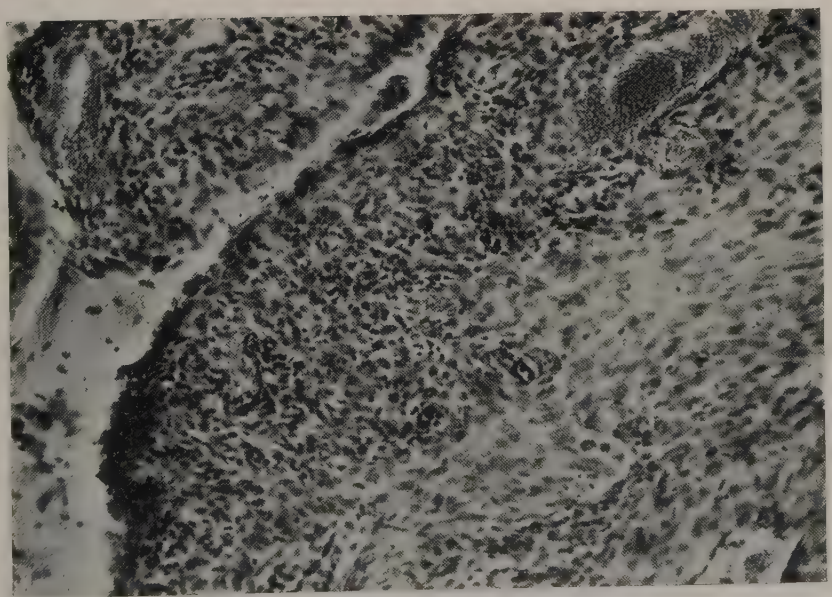


Abb. 7. Bindegewebsproliferation mit Ausbildung von Hohlräumen nach Art von Schleimbeuteln (Clavus 2. Stadium)

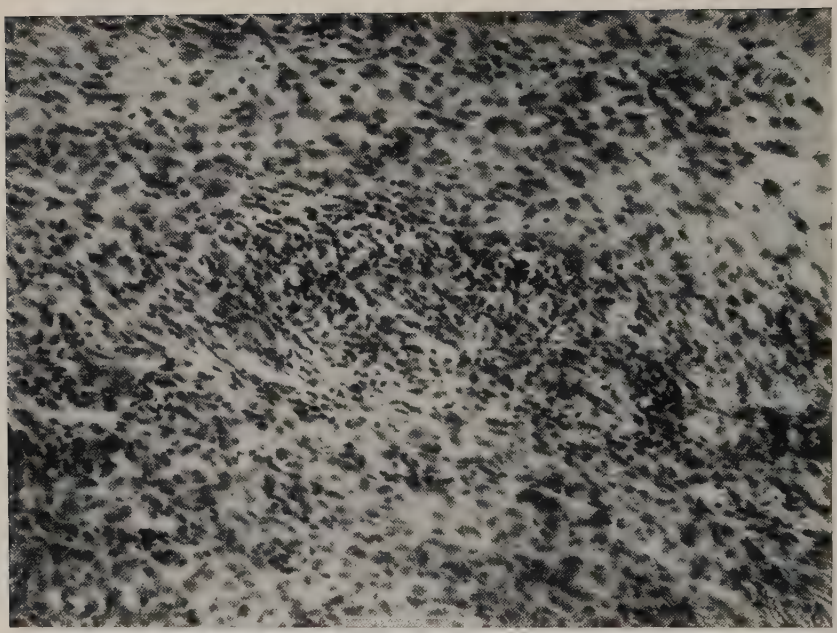


Abb. 8. Bindegewebsbildung und Übergang zum Sarkom (Clavus 3. Stadium)

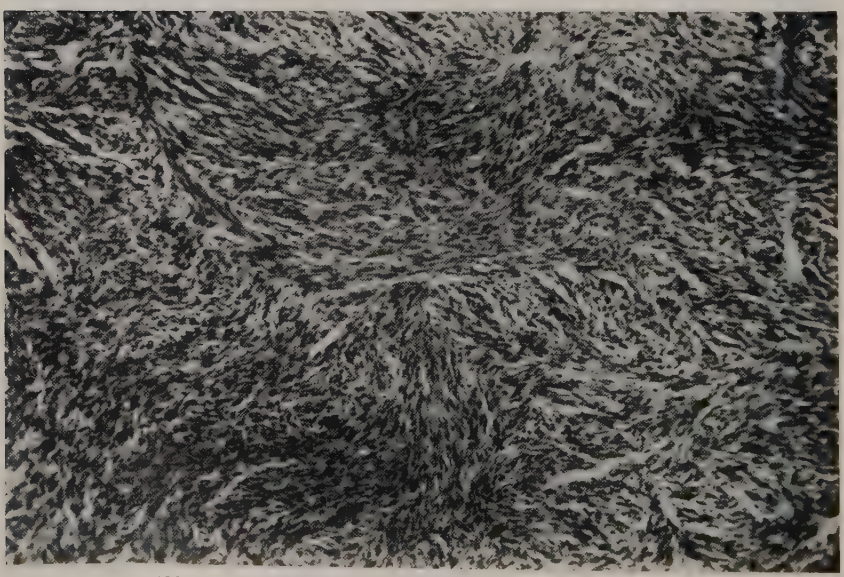


Abb. 9. Ausgebildetes Spindelzellsarkom (im Bereich des Tarsus)

Über etwaige Gefahren bei der *chirurgischen* Verwendung von Kunststoffen kann aus den Ratten-Implantationsversuchen höchstens geschlossen werden, daß auch beim Menschen wahrscheinlich kein Unterschied zwischen Gold, Silber und Kunststoffen besteht. „Unnatürlich" sind also weder die Kunststoffe noch das Gold, sondern nur deren Verwendungsart und Form: Eine Folie von 1,7 cm Durchmesser bei der Ratte dürfte einer Rundscheibe von etwa 20—30 cm Durchmesser für den Menschen entsprechen! Jede Ratte wurde aber in einigen Versuchen Nothdurfts mit 8—12 solcher Scheiben subcutan und intraperitoneal „gespickt"! Selbst der kühnste Chirurg würde beim Menschen solche ausgiebigen Implantationen weder mit Gold noch mit Kunststoffilmen wagen, zumal sie völlig sinnlos wären.

Für den Umgang mit Kunststoffen im *täglichen Leben* kann aus solchen Versuchen höchstens geschlossen werden, daß die Gesundheitsgefährdung nicht größer ist als die beim Umgang mit Silber und Gold.

Zusammenfassung

1. Es wird eine Übersicht gegeben über die *Chemie der Kunststoffe*, unter denen „abgewandelte Naturstoffe" und „vollsynthetische, hochpolymere organische Produkte" verstanden werden, die in Form von Stücken, Folien, Fasern oder Filmen technische Verwendung finden, sowie über die *Chemie ihrer Begleitstoffe* (Weichmacher, Stabilisatoren, Akzeleratoren usw.).

2. Die gewerbetoxikologischen Probleme und die Besonderheiten bei der *tierexperimentellen Prüfung* biologisch unbekannter neuer chemischer Substanzen werden erörtert, wobei der „funktionellen Toxikologie", d. h. der mehrmonatigen Prüfung an Katzen und Hunden — mit genauer klinischer Kontrolle — und dem Vergleich mit *Standardsubstanzen* von bekannter Wirkung am Menschen größere Bedeutung zugemessen wird als jahrelangen Fütterungsversuchen an Ratten, die sogar zu Fehlschlüssen führen können. Um etwaige schädliche biologische Wirkungen neuer Produkte rechtzeitig festzustellen, ist ebenso wichtig wie der Tierversuch die regelmäßige *Überwachung der Beschäftigten und ihres Arbeitsplatzes* („MAK-Werte") durch kritische Werksärzte und Gewerbetoxikologen.

3. Bei der *Herstellung* und *Verarbeitung* von Kunststoffen wurden mit diesen Methoden die — bisweilen nur für den Menschen charakteristischen — mitunter recht starken *biologischen Wirkungen der Monomeren* und anderer *Bausteine* oder *Zusatzprodukte* der Kunststoffe (Acrylnitril, Acrylamid, Acrylsäureester, Formaldehyd, Isocyanate, Hydrochinon, organische Zinnstabilisatoren und Peroxyde usw.) erkannt und Möglichkeiten zur Vermeidung solcher Schädigungen gegeben.

4. Bei der *bestimmungsgemäßen* Verwendung von Kunststoffen einschließlich der Kunststoffasern wurden *im täglichen Leben* keine Gesundheitsschäden und nur in Ausnahmefällen allergische Reaktionen bei sensibilisierten Patienten beobachtet, die auf Begleitstoffe (Appreturen, Farbstoffe usw.) zurückgeführt werden konnten und die leicht vermeidbar sind.

5. *Triorthokresylphosphat* ist für Tier und Mensch ein ausgesprochenes Nervengift, dessen Wirkungsstärke vom Alter der Versuchstiere abhängt. Wegen der geringen Flüchtigkeit und der schweren Resorbierbarkeit sind Vergiftungen aber praktisch nur bei mißbräuchlicher oder versehentlicher Verunreinigung von Nahrungsmitteln durch Orthokresylphosphat-haltige Weichmacher vorgekommen.

6. Die wichtigen Weichmacher vom *Dicarbonsäureester*-Typ, also auch die meistgebrauchten *Phthalate*, sind ausgesprochen ungiftig: Katzen vertragen monatelang täglich 2 g/kg ohne jede Schädigung. Nagetiere sind gegen einige Phthalsäureester empfindlicher, offenbar weil sie in ihrem anders gebauten Verdauungskanal (Blinddarm-Bakterienflora!) diese Ester leichter aufspalten können.

7. Die Verwendung von *Kunststoffen als Verpackungsmaterial für Nahrungsmittel* setzt ihre besonders eingehende chemische und pharmakologische Prüfung voraus. Die in das Nahrungsmittel etwa gelangenden „technisch nicht vermeidbaren Spuren" müssen in umfangreichen Tierversuchen auf ihre gesundheitliche Unbedenklichkeit geprüft werden, wofür *Richtlinien* mit Angabe von *Standardpräparaten* erforderlich sind. Die von der USA — Food and Drug Administration — herausgegebenen *Listen von freigegebenen Kunststoffen* und Zusatzprodukten können nur als Hinweis dienen.

8. Die Forderung, in Lebensmittel gelangende *Chemikalienspuren* auf ihre „*Cancerogenität*" durch wiederholte *subcutane* Injektion an Ratten zu prüfen, ist wissenschaftlich nicht begründet, zumal bei diesem Vorgehen auch harmlose Produkte wie Olivenöl oder Traubenzucker „cancerogen" erscheinen.

9. Die *Seltenheit von Berufskrebsen* — trotz der immer steigenden Zahl von Chemikalien und von Menschen, die mit Chemikalien beruflich in Berührung kommen — spricht dafür, daß *chemische Reize* beim Menschen nur *ausnahmsweise* zum Krebs führen. Die Angst vor cancerogenen chemischen Produkten in der Umgebung und besonders in der Nahrung des Menschen ist also unbegründet, sie scheint eine Folge der Überwertung bestimmter Tierversuche zu sein.

10. Die *chirurgische Verwendung* von Kunststoffen wie Polyäthylen, Polymethacrylat und Polyamid haben deren vollständige Reizlosigkeit und Ungiftigkeit für das menschliche Gewebe bewiesen. Kunststoffe können nach Tierversuchen ebensowenig als „cancerogen" bezeichnet

werden wie Gold, Silber, Platin und Elfenbein, da das bei Ratten nach der Implantation solcher Materialien erzeugte Sarkomwachstum nicht durch chemische Reize, sondern *physikalisch* (Form des Implantates!) verursacht sein muß. Im Tierversuch wirken bei *allen* geprüften Substanzen relativ große glatte Folien besonders stark tumorauslösend. Das Tumorwachstum bei Ratten scheint eine Folge des mechanisch bedingten Sauerstoffmangels und einer embryonal angelegten „Tumorbereitschaft" der betreffenden Gewebe zu sein.

Literatur

Anstett, F.: Die Polyamidplombe (Ergebnisse und Erfahrungen, Tuberkulosearzt **8**, 145 (1954). Augustin, E.: Beitrag zum Verhalten von Supramid als Nahtmaterial im Gewebe. Dtsch. med. Wschr. **1952**, 503. — Barnes, J. M., and F. A. Denz: Experimental methods used in determining chronic toxicity. Pharmacol. Rev. **6**, 191 (1954). — Bauer, K. H.: (1) Fortschritte in der Krebsforschung seit 1945. 74. Tagung der Dtsch. Ges. f. Chirurgie, München. Dtsch. med. Wschr. **1957**, 860. — (2) Das Krebsproblem. Springer-Verlag 1949. — (3) Exogene Krebsursachen und die Grundlagen der Krebsprophylaxe. (Grundlagen und Praxis chemischer Tumorbehandlung, 2. Freiburger Symposion, 17.—19. 7. 1953.) Springer-Verlag 1954 S. 249. — Berger: Aweta-Kuro der Bad. Anilin- und Sodafabrik A.-G., Ludwigshafen/Rh.: persönl. Mitteilung. — Bernstein, E. T., and P. M. Sachs: Pigmentary disturbance following exposure to monobenzyl ether of hydroqinone. Arch. of Dermat. **59**, 542 (1949). — Birmingham, D. J.: Dermatitis from plastics. Industr. Hyg. Newsletter, Wash. **7**, 6 (1947). — Blumenthal, F.: persönliche Mitteilung. — Bonser, G. M., D. B. Clayson and J. W. Jull: An experimental inquiry into the cause of industrial bladder cancer. Lancet **261**, 286 (1951). — Bonser, G. M.: Experimental cancer of the bladder. Brit. Med. Bull. **4**, 973 (1947). — Bonser, G. M., D. B. Clayson, J. W. Jull and L. N. Pyrah: The carcinogenic properties of 2-amino-1-naphthol hydrochlorid and its parent amine 2-naphthylamine. Brit. J. Canc. **6**, 412 (1952). — Borgmann, W., B. G. A. Hunold: o-Trikresylphosphat in Weichigelit. Z. Hyg. **133**, 26 (1951). — Bornmann, G., A. Loeser, K. Mikulicz u. K. Ritter: Über das Verhalten des Organismus bei Einwirkung verschiedener Weichmacher. Z. Lebensmittelunters. **103**, 413 (1956). — Brockbank, E. M.: Mulespinners' Cancer. London: Lewis & Co., Ltd., 1941. — Cagianut, B.: Keratitis erosiva und Nephritis toxica nach Einnahme von Dibutylphthalat. Schweiz. med. Wschr. **1954**, 1243. — Calnan, C. D. and H. T. H. Wilson: Nylon stocking dermatitis. Brit. Med. J. **1956**, 147. — Carpenter, Ch. P., C. S. Weil and H. F. Smyth: Chronic oral toxicity of di (2-ethylhexyl)phthalate for rats, guinea pigs, and dogs. Arch. Ind. Health **8**, 219 (1953). — Case, R. A. M., M. E. Hosker, D. B. McDonald and J. T. Pearson: Tumours of the urinary bladder in workmen engaged in the manufacture and use of certain dyestuff intermediates in the British chemical industry. Part I und II. Brit. J. Industr. Med. **11**, 75, 213 (1954). — Cibis, P.: Lidbildung und -hebung, mittels gefensterter Stützen aus „Supramid". Klin. Mbl. Augenheilk. **112**, 232 (1947). — Cibis, P., u. J. Kimmig: Alloplastiken in der Augenheilkunde mit „Supramid". Klin. Mbl. Augenheilk. **112**, 75 (1947). — Cook, W. A.: Maximum allowable concentration of industrial atmospheric contaminants. Ind. Med. **14**:**11**, 936 (1945). — Coppock, J. B. M.: Analytical and pharmacological problems arising from the use of organic chemicals as processing aids and hygiene aids in the food industry. J. Sci. Food a. Agriculture **3** 115 (1952). — Cottini, G. B., and G. B. Mazzone: The effects of 34-benzpyrene on human skin. Amer. J. Cancer **37**, 186 (1939). — Deichmann, W.: Toxicity of methyl, ethyl and n-butyl methacrylate.

J. ind. Hyg. **23**, 343 (1941). — Delbrück, M.: Wie vermehrt sich ein Bakteriophage? Angew. Chem. **66**, 391 (1954). — Dobkevitch, S., and R. L. Baer: (1) Allergic eczematous dermatitis due to dyes in nylon stockings. J. Invest. Dermat. **8**, 419 (1947). — (2) Eczematous cross-hypersensitivity to azo-dyes in nylon stockings and to paraphenylenediamine. J. Invest. Dermat. **9**, 203 (1947). — Domagk, G.: Weitere experimentelle Untersuchungen über die Ursachen des Krebses. Z. Krebsforschg. **48**, 283 (1939). — Doolittle, A. K.: The Technology of Solvents and Plasticizers. New York: J. Wiley & Sons, 1954. — Druckrey, H.: (1) Beiträge zum Mechanismus der Carcinogenese. Acta Union Internat. contre le Cancer **10**, Nr. 3 (1954). — (2) Experimentelle Grundlagen der Chemotherapie des Krebses. Dtsch. med. Wschr. **1952**, 1495. — Druckrey, H., u. K. Küpfmüller: Quantitative Analyse der Krebsentstehung. Z. Naturforsch. **3b**, 254 (1948). — Druckrey, H., u. D. Schmähl: (1) Cancerogene Wirkung von Kunststoff-Folien. Z. Naturforsch. **7b**, 353 (1952). — (2) Cancerogene Wirkung von Polyäthylenfolien an Ratten. Z. Naturforsch. **9b**, 529 (1954). — Druckrey, H., U. Consbruch u. D. Schmähl: Wirkungen von monomerem Acrylamid auf Proteine. Z. Naturforsch. **8b**, 145 (1953). — Dudley, H. C., and P. A. Neal: Toxicology of acrylonitrile (vinyl cyanide). I. A Study of the acute toxicity. J. ind. Hyg. **24**, 27 (1942). — Duffield, J. A.: Depigmentation of skin by quinol and its monophenyl ethers. Lancet **262**, 1164 (1952). — Ehrlicher, H., u. W. Pilz: Industriehygienische und arbeitsmedizinische Maßnahmen bei der Verwendung von Isocyanaten (Desmodur) und der analytischen Bestimmung einiger aromatischer Isocyanate. Arbeitsschutz, Berlin (1956) 276; (1957) 7. — Eichholtz, F.: Die toxische Gesamtsituation auf dem Gebiet der menschlichen Ernährung. Umrisse einer unbekannten Wissenschaft. Springer-Verlag 1956. — Elkins, H. B.: The chemistry of industrial toxicology. New York: John Wiley & Sons, 1950. — Ernst, H.: Über das Auftreten von Dermatitis nach Verwendung eines Formaldehyd-haltigen Klebstoffes. Z. Orthop. **79**, 171 (1950). — Eyer, H., u. U. Schaeling: Bekleidungshygienische Untersuchungen an Perlongeweben. Zbl. Bakter. I. Orig. (1) Teil I. **165**, 550 (1956); (2) Teil II. **166**, 413 (1956). — Fabre, R., u. R. Truhaut: Das Problem der Ersatzlösungsmittel des Benzols und seine Beziehungen zu der Gewerbehygiene. Internationaler Kongreß f. Arbeitsmed., Neapel 13.—19. 9. 1954. S. 135. — Falks, A. L., and P. E. Steiner: The Identification of aromat. Polycycl. Hydrocarbons in Carbon Blacks. Cancer Res. **12**, 30 (1952). — Fieser, L. F.: Hydrocarbon carcinogeneses, in Research Conference on Cancer, American Association for the Advancement of Science, 1945, 108. — Fitzhugh, O.G.: (US. Food and Drug Administration) Chronic oral toxicity. Abhandlung innerhalb des Symposions von Lehman et al. „Procedures for the appraisal of the toxicity of chemicals in foods, drugs and cosmetics." Food-Drug-Cosmetic Law Journal **10**, 679 (1955). — Fleming, A. J.: The provocative test for assaying the dermatitis hazards of dyes and finishes used in nylon. J. Invest. Dermat. **10**, 281 (1948). — Frazer, A. C.: Problems arising from the use of chemicals in foods. Chem. a. Ind. **1952**, 456. — Friebel, H., E. Gross, L. Immisch-Seehausen, K. H. Linke u. S. Sommer: Zur Toxicität von reinem Phthalsäureanhydrid und Rohprodukten aus der industriellen Phthalsäuresynthese. Arch. Gewerbepath., Berlin **14**, 465 (1956). — Friebel, H., u. H. Lüchterath: (1) Zur Wirkung von Toluylendiisocyanat auf die Atemwege. Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **227**, 93 (1953). — (2) Gesundheitsschäden durch neuartige Lacke und Schaumstoffe. Dtsch. med. Wschr. **1956**, 980. — Gaeth, R., Aweta-Kuro der Bad. Anilin- und Sodafabrik A.G., Ludwigshafen/Rh.: persönliche Mitteilung. — Ganz, H., u. E. Mager: Gesundheitsschädigungen durch den Schaumstoff Moltopren. Zbl. Arbeitsmed. u. Arbeitsschutz **4**, 42 (1954). — Gleason, M. N., R. E. Gosselin and H. C. Hodge: Clinical Toxicology of Commercial Products.

Baltimore: The Williams & Wilkins Co. 1957. — Gnamm, H.: Die Lösungsmittel und Weichmachungsmittel. Stuttgart: Wissenschaftl. Verlagsges. m. b. H. 1950. — Goldenberg, I. S.: Penicillin in sesame oil and fibrosarcoma. Cancer **7**, 905 (1954). — Goldblatt, M. W., M. E. Farquharson, G. Bennett and B. M. Askew: ε-Caprolactam. Brit. J. Industr. Med. **11**, 1 (1954). — Groetschel, H.: Massenvergiftung durch Triorthokresylphosphat in einer Gummimantelfabrik. Arch. Toxikol. **15**, 159 (1955). — Gross, E.: Das Carcinom vom Standpunkt des Gewerbetoxikologen („Chemie und Krebs", Sonderdruck aus „Angew. Chemie"). Berlin: Verlag Chemie 1940, S. 100. — Gross, E., u. A. Grosse: Ein Beitrag zur Toxikologie des o-Trikresylphosphates. Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **168**, 473 (1932). — Günther, O.: Kunststoffe und ihre arbeitsmedizinische Bedeutung. Zbl. Arbeitsmed. u. Arbeitsschutz **6**, 156 (1956). — v. Haam, E., and F. S. Mallette: Studies on the toxicity and skin effects of compounds used in the rubber and plastic industries: III. Carcinogenicity of carbon black extracts. Arch. Industr. Hyg., Chicago **6**, 237, (1952). — Hald, J., and E. Jacobsen: The formation of acetaldehyde in the organism after ingestion of antabuse (tetraethylthiuramdisulphide) and alcohol. Acta pharmacol. (Kopenh.) **4**, 305 (1948). — Harris, R. S., H. C. Hodge, E. A Maynard and H. J. Blanchet: Chronic oral toxicity of 2-ethylhexyl phthalate in rats and dogs. Arch. Ind. Health **13**, 259 (1956). — Harris, D. K.: (1) Health problems in the manufacture and use of plastics. Brit. J. Industr. Med. **10**, 255 (1953). — (2) Polymer-fume fever. Lancet **261**, 1008 (1951). — Hartwell, J. L.: Survey of compounds which have been tested for cancerogenic activity. — National, Institutes of Health, Bethesda, Md., Public Health Service Publications, Nr. 149 2. Ed., 1951. — Hartwigk, H.: Lähmungen bei Hühnern durch Weichigelit. Mh. Vet.-med. **5**, 53 (1950). — Hattemer, A. J.: Über die Wirkung einiger Kunststoffe im Gewebe. Dtsch. zahnärztl. Z. **11**, 924 (1956). — Hecht, G.: (1) Pharmakologisches zur Verwendung von Kunststoffen in der Medizin. Überblick über die Aesthetische Medizin nach Vorträgen beim Berliner Kongreß. Ärztl. Kosmetik **4**, 92 (1956). — (2) persönliche Mitteilung. — Heinze, R.: Kunststoffe in der Medizin. Leipzig: J. A. Barth 1955. — Henry, S. A.: Occupational cutaneous cancer attributable to certain chemicals in industry. Brit. Med. Bull. **4**, 400 (1946/47). — Hilgenfeldt, B.: persönliche Mitteilung. — Hilgenfeldt, B., H. Oettel u. H. Zeller: unveröffentlichte Beobachtungen. — Hine, Ch. H., M. K. Dunlap: E. G. Rice, M. M. Coursey, R. M. Gross and H. H. Anderson: The neurotoxicity and anticholinesterase properties of some substituted phenyl phosphates. J. Pharmacol. a. Exper. Ther. **116**, 227 (1956). — Hodge, H. C., E. A. Maynard, H. J. Blanchet, R. E. Hyatt, V. K. Rowe and H. C. Spencer: Chronic oral toxicity of ethyl phthalylethyl glycolate in rats and dogs. Arch. Ind. Health **8**, 289 (1953). — Hodge, H. C., and J. H. Sterner: The skin absorption of triorthocresyl phosphate as shown by radioactive phosphorus. J. Pharmacol. a. Exper. Ther. **79**, 225 (1943). — Hofmann, H. Th.: Neuere Erfahrungen mit hochtoxischen Chlorkohlenwasserstoffen. 23. Tagung der Deutschen Pharmakologischen Gesellschaft, Freiburg/Br., 12.—15. 6. 1957. — Hofmann, H. Th., u. H. Oettel: (1) unveröffentlichte Versuche. — (2) Die Leberfunktionsprüfung mit dem Bromsulphthalein-Test als einfache Mikromethode. Ärztl. Wschr. **1954**, 965. — Hohensee, F.: Über die pharmakologische und physiologische Wirkung des ε-Caprolactam. Faserforschg. u. Textiltechnik **8**, 299 (1951). — Hopff, H.: Zur Entwicklung der Kunststoffchemie. Chemische Industrie **4**, 719 (1952). — Hueper, W. C., F. H. Wiley and H. D. Wolfe: Experimental production of bladder tumors in the dogs by administration of β-naphthylamine. J. ind. Hyg. **20**, 46 (1938). — Humpe, F.: Einige Fälle von Trikresylphosphat-Vergiftungen. Münch. med. Wschr. **1943**, 568. — Humperdinck, K.: Untersuchungsergebnisse an Arbeiterinnen und Arbeitern bei

Verwendung von Kunstharzlösungen auf der Basis von Formaldehyd-Phenolkondensationsprodukten. Arch. Gewerbepath., Berlin **11**, 519 (1942). — Hunter, D., K. M. A. Perry and R. B. Evans: Toxic polyneuritis arising during the manufacture of tricresyl phosphate. Brit. J. Industr. Med. **1**, 227 (1944). — Ingalls, T. H.: Incidence of cancer in the carbon black industry. Arch. Industr. Hyg. Chicago **1**, 662 (1950). — Johnson, V., A. J. Carlson and A. Johnson: Studies on the physiological action of glycerol on the animal organism. Amer. J. Physiol. **103**, 517 (1933). — Johnstone, R. T.: Occupational Medicine and Industrial Hygiene. St. Louis: The C. V. Mosby Co. 1948. — Jordi, A. U.: Akute Vergiftung durch Trikresylphosphat. J. Aviation Med. **23**, 623 (1952). — Kalbfleisch, L.: Tierexperimentelle Beobachtung über Apiolvergiftung. Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **171**, 439 (1933). — Karpow, B. D.: Methacrylsäuremethylester unter dem Gesichtspunkt der Arbeitshygiene. Hyg. Sanitätswes. (russ.) 10, 25 (1954). Übersetzung von Dr. R. K. Müller, basf. — Zur toxikologischen Beurteilung des Acrylsäuremethylesters. Hyg. Sanitätswes. (russ.) **8**, 19 (1955). Übersetzung von Dr. R. K. Müller, basf. — Kaskie, J. C.: Toxicity of 2-ethylhexyl diphenyl phosphate. III. Studies of the extraction of santicizers 141 from poly vinyl chloride films by foodstuffs under various conditions of storage. Arch. Ind. Health **8**, 281 (1953). — Keil, H.: Dermatitis due to resin-finished shorts and fabric. An investigation of the cause, pathogenesis, and related phenomena observed in 10 Cases. J. Allergy **14**, 477 (1943). — Kennaway, E. L., I. Hieger, J. W. Cook and W. V. Mayneord: The production of cancer by pure hydrocarbons. Proc. Roy. Soc. Lond. B **111**, 455 (1932). — Klauder, J. V.: Sensitization dermatitis from scotissue towels. Arch. f. Dermat. **57**, 415 (1948). — Koch, F., u. J. Hussong: Über Hautverträglichkeit von Textilerzeugnissen aus Polyamidfäden und -fasern (Perlon). Z. Hautkrkh. **14**, 170 (1955). — Lang, K.: Behandlung von Lebensmitteln mit chemischen Zusätzen. Dtsch. med. Wschr. **1957**, 97, 137. — Laskin, D. M., I. B. Robinson and J. P. Weinmann: Experimental production of sarcomas by methyl methacrylate implants. Proc. Soc. Exper. Biol. a. Med. **87**, 329 (1954). — Lefaux, R.: (1) Plastische Massen: Toxikologie und Gewerbehygiene. Internat. Kongreß für Arbeitsmedizin. Neapel, 13.—19. 9. 1954. — (2) Toxicologie des Matières Plastiques et des Composés Macromoléculaires. Paris: Masson et Cie 1952. — Lehman, A. J., and A. A. Nelson: Problems of Food Safety. Quart. Bull. Ass. Food & Drug Off. **20**, 152 (1956). — Lehman, A. J.: (1) Plastic packaging materials. Quart. Bull. Ass. Food & Drug Off. **18**, 129 (1954). — (2) **20**, 159 (1956). — (3) Some toxicological reasons why certain chemicals may or may not be permitted as food additives. Quart. Bull. Ass. Food & Drug Off. **14**, 82 (1950). — (4) Chemicals in food: A report to the Association of Food & Drug Officials on current Developments. Quart. Bull. Ass. Food & Drug Off. **15**, 82 (1951). — Lehman, A. J., and W. I. Patterson: F & DA acceptance criteria. Basic considerations in determining safety of chemicals used in food-packaging materials. Modern Packaging **28**, 115 (1955). — Lehman, A. J., W. I. Patterson, B. Davidow, E. C. Hagan et al.: Procedures for the appraisal of the toxicity of chemicals in foods, drugs and cosmetics. Food-Drug-Cosmetic-Law J. **10**, 679 (1955). (Übersetzung bei Eichholtz.) — Lendle, L.: Umstrittener Wert toxikologischer Gutachten über die Gesundheitsgefährdung durch chemische Nahrungsmittelzusätze? Der Med. Sachverständige **52**, 102 (1956). — Lewis, W., and L. Schwartz: The occupationals disease no one talked about. Arch. Ind. Health **13**, 628 (1956). — Linder, F., u. M. Schwaiger: Supramid — ein neuer Kunststoff in der Chirurgie. Chirurg **17/18**, 675 (1947). — Lockey, S. D.: Contact dermatitis resulting from the manufacture of synthetic resins and methods of control. J. Allergy **15**, 188 (1944). — Loeser, A., u. G. Bornmann: Biologische Wirkungen von monomerem Styrol. Fette u. Seifen **58**,

181 (1956). — Mallette, F. S., and v. Haam, E.: (1) Studies on the toxicity and skin effects of compounds used in the rubber and plastics industries. II. Plasticizers. Arch. Ind. Health **6**, 231 (1952). — (2) Studies on the toxicity and skin effects of compounds used in the rubber and plastics industries. I. Accelerators, activators, and antioxidants. Arch. Industr. Hyg. Chicago **5**, 311 (1952). — Markuson, K. E., T. F. Mancuso u. J. C. Soet: Dermatitis due to the formaldehyde resins Industr. Med. **12**, 383 (1943). — Marsden, C.: Solvents and allied substances manual. London: Clever-Hume-Press, Ltd. 1954. — Massmann, W., u. K. Pilgrim: (1) Durch Polyamidstäube hervorgerufene Gewebsreaktionen. Zbl. Arbeitsmed. u. Arbeitsschutz **6**, 88 (1956). — (2) Über die Wirkung von Polyamidstäuben auf Ratten nach intratrachealer und peroraler Zufuhr. Arch. Gewerbepath., Berlin **15**, 110 (1956). — Mayer, R. L.: Compounds of quinone structure as allergens and cancerogenic agents. Experientia (Basel) **6**, 241 (1950). — McCay, C. M.: Effects of restricted feeding upon aging and chronic diseases in rats and dogs. Amer. J. Publ. Health **37**, 521 (1947). — McOmie, W. A.: Comparative toxicity of methacrylonitrile and acrylonitrile. J. ind. Hyg. **31**, 113 (1949). — Mohr, H. J.: (1) Gewebsschädigungen durch Polymethacrylsäuremethylester, eines für Plastiken, Prothesen, und Zahnfüllungen gebräuchlichen Kunststoffes. Verh. Dt. Ges. Path., 39. Tagung, Zürich 1.—4. 6. 1955. — (2) Kunststoffe in der Medizin. Habilitationsschrift Münster 1956. — Müller, A.: Kunststoffe in der Medizin. (Aus Wehrenalp u. Saechtling, Jahrhundert der Kunststoffe in Wort und Bild. Düsseldorf: Econ-Verlag 1952. — Müller, H., u. K. E. Littann: Über die Verträglichkeit von Supramidimplantaten. Klin. Mbl. Augenheilk. **126**, 430 (1955). — Murray, R.: Occupational hazards of the cotton industry. I. Mule spinners cancer. J. Ind. Nurses **3**, 132 (1951). — Nothdurft, H.: (1) Die experimentelle Erzeugung von Sarkomen bei Ratten und Mäusen durch Implantation von Rundscheiben aus Gold, Silber, Platin oder Elfenbein. Naturwissenschaften **42**, 75 (1955). — (2) Über die Sarkomauslösung durch Fremdkörperimplantationen bei Ratten in Abhängigkeit von der Form der Implantate. Naturwissenschaften **42**, 106 (1955). — (3) Experimentelle Sarkome durch reizlos einheilende Fremdkörper. „Krebsforschung und Krebsbekämpfung". Sonderband zur „Strahlentherapie" **34**, 14 (1955). — (4) Experimentelle Sarkomauslösung durch eingeheilte Fremdkörper. Strahlenther. **100**, 192 (1956). — Oettel, H.: (1) Klinische und tierexperimentelle Erfahrungen mit hochtoxischen Chlorkohlenwasserstoffen; ein Beitrag zum Perna-Problem. Werksärztekonferenz der Berufsgenossenschaft der chemischen Industrie, Bad Dürkheim 4./5. 6. 1955. — (2) Gesundheitsgefährdung durch Gase, Dämpfe und Staube im Arbeitsraum. Verh. Dtsch. Ges. Arbeitsschutz **2**, 12 (1954). — (3) Die maximale Arbeitsplatz-Konzentration (= MAK-Werte) schädlicher Gase, Dämpfe und Staube. Berufsgenossenschaft 1954, Nr. 2. — (4) Gewerbliche Vergiftungen durch Gase, Dämpfe und Staubarten. Arch. Tox. **15**, 42 (1954). — (5) Die Aufgabe des Gewerbetoxikologen in der chemischen Großindustrie. BASF-Zeitschrift 1952, S 61. — (6) Cancerogene Substanzen und Berufskrebs. Vortrag Gesellschaft zur Bekämpfung des Krebses in Mainz am 2. 7. 1955. — (7) Die Hydrochinonvergiftung. Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **183**, 319 (1936). — Oettel, H., u. G. Wilhelm: (1) Die Bedeutung des „Tumorspektrums" für die Beurteilung cytostatisch wirksamer Substanzen. Dtsch. med. Wschr. **1957**, 1461. — (2) Vergleichende Prüfung von cytostatisch wirksamen Produkten an 7 Tiertumoren. Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **230**, 559 (1957).—(3) Unveröffentlichte Beobachtungen. — Oettel, H., u. H. Zeller: unveröffentlichte Versuche. — Oettel, H. J.: Einwirkung organischer Flüssigkeiten auf die Haut. Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **183** 641 (1936). — Oppenheimer, B. S., and E. T. Oppenheimer: Sarcomas induced in rats by implanting cellophane. Proc. Soc. Exper. Biol. a. Med. **67**, 33 (1948). — Oppenheimer, B.

S., E. T. Oppenheimer, I. Danishefsky, A. P. Stouts and F. R. Eirich: (1) Further studies of polymers as carcinogenic agents in animals. Cancer Res. **15**, 333 (1955). — Oppenheimer, B. S., E. T. Oppenheimer and A. P. Stout: (2) Sarcomas induced in rodents by imbedding various plastic films. Proc. Soc. Exper. Biol. a. Med. **79**, 366 (1952). — Oppenheimer, B. S., A. P. Stout, E. T. Oppenheimer and M. Willhite: (3) Study of the precancerous stage of fibrosarcomas induced by plastic films. Cancer Res. **2**, 237 (1957). — Oppenheimer, B. S., E. T. Oppenheimer, I. Danishefsky and A. P. Stout: (4) Malignant tumors resulting from embedding plastics in rodents. Science **118**, 305 (1953). — Orth, H.: Der Aufbau der Kunststoffe und deren wichtigste Anwendungsformen. Hanser-Verlag 1952. — Pangman, W. J., and R. M. Wallace: Der Gebrauch von Plastikmaterial in der plastischen Brustchirurgie und in der Chirurgie anderer weicher Gewebe. West. J. Surg. etc. **63**, 503 (1955). — Peck, S. M., J. Q. Gant u. L. Schwartz: Hardening in industrial allergic dermatitis. Industr. Med. **14**, 214 (1945). — Petrina, N., Mercadante, T.: Nylonnetze in der Bauchchirurgie. Minerva Chir. (Torino) **1950**, 747. — Pfeil, E.: Lungentumoren als Berufserkrankung in Chromatbetrieben. Dtsch. med. Wschr. **1935**, II, 1197. — Pirilä, V.: Dermatitis caused by synthetic resins. XI. Int. Kongr. Arbeitsmed., Neapel, Sept. 1954. — Pozzani, U. C., C. S. Weil and Ch. P. Carpenter: Subacute vapor toxicity and range-finding data for ethylacrylate. J. Industr. Hyg. **31**, 311 (1949). — Rehn, L.: Blasengeschwülste bei Fuchsinarbeitern. Arch. klin. Chir. **1**, 588 (1895). — Reinl, W.: (1) Über Erkrankungen bei der Verarbeitung von Kunststoffen auf der Basis der Polyurethane. Zbl. Arbeitsmed. u. Arbeitsschutz **3**, 103 (1953). — (2) Erkrankungen durch Tetramethylbernsteinsäuredinitril bei der Schaumstoffherstellung. Arch. Tox. (im Druck). — Ridley, H.: Further experiences of intraocular acrylic lens surgery with a report of more than 100 cases. Brit. J. Ophthalm. **38**, 156 (1954). — Robinson-Görnhardt, L.: Kunststoffe in der Lebensmittelverpackung. Kunststoffe **47**, 54 (1957). — Rouzaud, M., et I. Lutier: Oedème aubaigu cérébro-méningé du a une intoxication d'actualité. Presse méd. **62**, 1075 (1954). — Saechtling, Hj.: Die Herkunft der Kunststoffe. 2. Aufl. München: Carl Hanser-Verlag 1957. — Salter, W. T.: Chemistry of carcinogens. Occup. Med. **5**, 441 (1948). — Saxton, J. A., and G. C. Kimball: Relation of nephrosis and other diseases of albino rats to age and to modification of diet. Arch. of Path. **32**, 951 (1941). — Schallock, G.: persönliche Mitteilung. — Schmitz, R.: Perlonekzeme. Berufsdermat. **2**, 275 (1954). — Schreus, H. Th.: Prolegomena zu einem Referat über dermatologische Berufskrankheiten. Berufsdermat. **4**, 201 (1956). — Schubert, G., u. G. Uhlmann: Zur krebserzeugenden Wirkung von Polyamiden. Dtsch. med. Wschr. **1955**, 1530. — Schürmann, D.: Gesundheitsschäden durch neuartige Lacke und Schaumstoffe. Dtsch. med. Wschr. **1955**, 1661. — Schütz, E.: Der Einfluß von Polyäthylenglykol auf die percutane Resorption von Wirkstoffen. Inaug. Diss. Mainz 1955. — Schulemann, W.: Zusatzstoffe zu Lebensmitteln. Ernährungswirtsch. 1956, Nr. 6. — Schulz, K. H., u. W. P. Herrmann: Zur Ätiologie von Perlonstrumpf-Ekzemen. Hautarzt **1956**, 313. — Schulze, W., et L. Wilhelm: Über Gießharzverbände. Bull. de la Soc. internat. de Chir. **15**, 366 (1956). — Schulze, W.: Gießharzverbände. Langenbecks Arch. u. Dtsch. Z. Chir. **282**, 995 (1955). — Schulze-Brüggemann, W., u. G. Strietzel: Untersuchungen über das Verhalten der intrathorakalen Perlonplombe. Zbl. Chir. 1953, S. 1668. — Schwartz. L.: Dermatitis among the public from new fabrics, dyes and finishes. Chem. & Eng. News **27**, 1358 (1949). — Seeler, A. O.: Experiments on the chronic toxicity of a copolymer of vinyl and vinylidene chloride. Unpublished. (zitiert bei R. H. Wilson und W. E. McCormick). — Sexton, R. J., and A. V. Henson: Experimental ethylene oxide human skin injuries. Arch. Industr.

Hyg. Chicago **2**, 549 (1950). — Shaffer, C. B., Ch. P. Carpenter and H. F. Smyth: Acute and subacute toxicity of di(2-ethylhexyl)phthalate with note upon its metabolism. J. Industr. Hyg. **27**, 130 (1945). — Shemiakin, M. M., and I. A. Schukina: Experimental corroboration of the mechanism of biological action of quinones of the type of vitamin K. Nature (Lond.) **154**, 513 (1944). — Shubik, P., and J. Sicé: Chemical carcinogenesis as a chronic toxicity test. Cancer Res. **16**, 728 (1956). — Smith, C. C.: Toxicity of plasticizers. Arch. Ind. Health **7**, 310 (1953). — Smith, M. I., E. W. Engel and E. F. Stohlman: Further studies on the pharmacology of certain phenolesters with special reference to the relation of chemical constitution and physiologic action. Nat. Inst. Health Bull. Hyg. Lab. **160**, 9 (1930/32). — Smith, C. C., P. M. Zeek and J. McGuire: Periarteritis nodosa in experimental hypertensive rats and dogs. Amer. J. Path. **20**, 721 (1944). — Smyth, H. F., and Ch. P. Carpenter: (1) The place of the range-finding test in the industrial toxicology laboratory. J. Industr. Hyg. **26**, 269 (1944). — (2) Further experience with the range -finding test in the industrial toxicology laboratory. J. Industr. Hyg. **30**, 63 (1948). — (3) Range finding toxicity data. Arch. Ind. Health **10**, 62 (1954). — Smyth, H. F., Ch. P. Carpenter and C. S. Weil: (1) Range finding toxicity data. J. Industr. Hyg. **31**, 60 (1949). — (2) Arch. Industr. Hyg. **4**, 119 (1951). — Spealman, C. R., R. J. Main, H. B. Haag and P. S. Larson: Monomeric methyl methacrylate. Studies on toxicity. Industr. Med. **14**, 292 (1945). — Spencer, H. C., D. D. Irish, E. M. Adams and V. K. Rowe: The response of laboratory animals to monomeric styrene. J. Industr. Hyg. **24**, 295 (1942). — Spencer, G. A.: Leukoderma produced by antioxydants. Arch. of Dermat. **58**, 215 (1948). — Spitz, S., W. H. Maguigan and K. Dobriner: The carcinogenic action of benzidine. Cancer **3**, 789 (1950). — Spolyar, L. W.: Indiana Chemists Report Toxicity of Product of Porofor N. Ind. Hyg. Newsletter **8**, 3 (1948). — Spreng, M.: Zahnärztliche Prothesen und Mundhöhlen-Carcinom. Bern: Verlag Huber 1949. — Staehelin, R.: Über Tri-ortho-kresyl-phosphatvergiftungen. Klin. Wschr. **1941**, 229. — Stanley, W. M.: Vortrag anläßlich der 3. amerikanischen Krebskonferenz im Juni 1956 in Detroit/USA. Ref.: Med. Klin. **51**, 1382 u. 2104 (1956). — Steiner, P. E.: The conditional biological activity of the carcinogens in carbon blacks, and its elimination. Cancer Res. **14**, 103 (1954). — Stoeckhert, K.: Kunststoff-Lexikon. München: Carl Hanser 1953. — Stockinger, H. E.: Advances in industrial toxicology for the year 1955. Arch. Ind. Health **14**, 206 (1956). — Susser, M., and Z. Stein: An outbreak of tri-ortho-cresylphosphate (TOCP) poisoning in Durban. Brit. J. Industr. Med. **14**, 111 (1957). — Swensson, A., C. E. Holmquist and K. D. Lundgren: Injury to the respiratory tract by isocyanates used in making lacquers. Brit. J. Industr. Med. **12**, 50 (1955). — Tabershaw, I. R., and M. Kleinfeld: Manufacture of tricresyl-phosphate and other alkyl phenyl phosphates. An industrial hygiene study. II. Clinical effects of tricresyl phosphate. Arch. Ind. Health **15**, 541 (1957). — Thienes, C. H., Ch. F. Lombard, F. J. Fielding, A. J. Lesser and M. J. Ellenhorn: Alterations in reproductive functions of white rats associated with daily exposure to nicotine. J. Pharm. a. Exper. Ther. **87**, 1 (1946). — Thinius, K.: Zur physiologischen Wirksamkeit der Weichmacher. Plaste und Kautschuk **1**, 194 (1954). — Tollenaar, D., D. A. A. Mossel and H. van Genderen: Non-nutrient chemicals in food. Chem. a Ind. **1952**, 923. — Treon, J. F., F. R. Dutra and F. P. Cleveland: (1) Toxicity of 2-ethylhexyl diphenyl phosphate. I. Immediate toxicity and effects of long-term feeding experiments. Arch. Ind. Health **8**, 170 (1953). — Treon (2), J. F., H. Sigmon, H. Wright and K. V. Kitzmiller: The toxicity of methyl and ethyl acrylate. J. Industr. Hyg. **31**, 317 (1949). — Turner, F. C.: Sarcomas at sites of subcutaneously implanted bakelite disks in rats. J. Nat.

Cancer Inst. (Bethesda) **1941**, 2, 81. — Umeda, M.: Experimental study of xanthene dyes as carcinogenic agents. Gann **47**, 51 (1956). — Wagner, S.: Formaldehyd als internes Therapeutikum in der Magenpathologie. Münch. med. Wschr. **1950**, 524. — Walpole, A. L., D. C. Roberts, F. L. Rose, J. A. Hendry and R. F. Homer: Cytotoxic agents: The carcinogenic actions of some monofunctional ethyleneimine derivatives. Brit. J. Pharmacol. **9**, 306 (1954). — Wandeberg, E.: Kunststoffe — ihre Verwendung in Industrie und Technik. Springer-Verlag 1955. — Kunststoffe. Berufsgenossensch. 1956, S. 404. — v. Wehrenalp, E. B., u. Hj. Saechtling: Jahrhundert der Kunststoffe in Wort und Bild. Düsseldorf: Econ-Verlag 1952. — Wenger, F.: Aweta-Tero der Bad. Anilin- u. Sodafabrik A.G., Ludwigshafen/Rh.: persönliche Mitteilung. — Wilens, S. L., and E. E. Sproul: Spontaneous cardiovascular disease in the rat. II. Lesions of the vascular system. Amer. J. Path. **14**, 201 (1938). — Wilke, G.: Ein einfacher Nachweis der durch tierische Gewebe, Homogenate, Gewebssäfte und Proteine bewirkten Polymerisation von monomerem Acrylamid zu Polyacrylamid. Naturwissenschaften **40**, 319 (1953). — Williams, R. T.: Detoxication mechanism. London: Chapman & Hall Ltd. 1947. — Wilson, F. H.: Health hazards encountered in the manufacture of synthetic rubber. J. Amer. Med. Assoc. **124**, 701 (1944). — Wilson, R. H., G. V. Hough and W. E. McCormick: Medical problems encountered in the manufacture of american-made rubber. Industr. Med. **17**, 6 (1948). — Wilson, R. H., and W. E. McCormick: Toxicology of plastics and rubber. Ind. Med. a. Surg. **23**, 479 (1954). — Wurzschmitt, B.: (1) Persönliche Mitteilung. — (2) Über den Nachweis und die Bestimmung von Tri-orthokresylphosphat bzw. o-Kresol in technischem Trikresylphosphat und Bedarfsgegenständen aus weichgemachten Kunststoffen. Z. anal. Chem. **129**, 233 (1949). — Wyss, V.: Pathological symptoms caused by formaldehyde. Rass. med. indust. **19**, 290 (1950). — Yamagiwa, K., and K. Ichikawa: Experimental study of the pathogenesis of carcinoma. Cancer Res. **3**, 1 (1918). — Yonkman, F. F., A. J. Lehman, C. C. Pfeiffer and H. F. Chase: A study of the possible toxic effects of prolonged formaldehyde ingestion. J. Pharm. a. Exper. Ther. **72**, 46 (1941). — Zakon, S. J., and A. L. Goldberg: Occupational leukoderma from rubber dust and debris. Arch. Dermat. **64**, 441 (1951). — Zeller, H.: (1) unveröffentlichte Versuche. — (2) Zur Prüfung epidermal sensibilisierender Stoffe im Tierversuch. — Vortrag bei der 23. Tagung der Deutschen Pharmakologischen Gesellschaft in Freiburg/Br. (12.—15. 6. 1957). — Zollinger, H. U.: Experimentelle Erzeugung maligner Nierenkapseltumoren bei der Ratte durch Druckreiz (Plastic-Kapseln). Schweiz. Z. allg. Path. **15**, 665 (1952).

Diskussion

P. Wels (Greifswald): In den Erörterungen über die Irreversibilität und die Summationswirkung von Zellschäden sind in den Referaten auch die Schäden von Röntgenstrahlen herangezogen worden. Ob bei Röntgenschäden eine Summation in Erscheinung tritt oder nicht, hängt, ähnlich wie bei der Einwirkung stofflicher Gifte, im allgemeinen von dem zeitlichen Abstand der Einzelinsulte ab. Ist dieser Abstand gering, so ist die Summation kleiner Dosen möglich und wird durch zahlreiche klinische Erfahrungen bestätigt (Röntgenulkus nach häufigen Durchleuchtungen). Bei wachsendem Abstand wird die Summation, auch wenn der Grundvorgang irreversibel ist, immer unwahrscheinlicher, offenbar weil der Organismus Zeit gewinnt, Ausgleichsvorgänge zur Wirkung zu bringen. Ganz andere Perspektiven für die Beurteilung der Summation von Schäden ergeben sich jedoch aus den neueren Untersuchungen an Keimzellen.

G. Kärber (Berlin): Die Referate des Vormittags richteten sich offensichtlich gegen gewisse Übertreibungen des Fremdstoffproblems. Aus manchem, was gesagt oder gezeigt wurde, könnte aber ein verwegener Zuhörer den Schluß ziehen: „Eßt mehr Fremdstoffe und ihr bleibt gesund!" Das wäre nach der anderen Seite wiederum nicht richtig. Daran erinnern möchte ich, daß es in den dreißiger Jahren eine gesundheitliche Frage ersten Ranges war, als im Wein Arsengehalte von 10, 20, 30, 40 mg As/Liter auftraten. Es bedurfte eines ungeheuren Aufwands an Arbeit und Mitteln, um durch laufende Untersuchung des Weines, die Entfernung jeden As-Gehalts über 1 mg/Liter durch die sogenannte Rotschönung und schließlich durch Verbot der Arsenanwendung im Weinbau die Situation zu beherrschen. Fünf Jahre waren hierzu nötig. Wer diese 5 Jahre damals bewußt miterlebt hat, dem ist ein gehöriger Respekt vor dem Fremdstoffproblem verblieben. Um so erfreulicher ist es, daß aus den Referaten des Vormittags zugleich doch auch eine hohe Verantwortlichkeit sprach, die wohl dahin zusammengefaßt werden kann, daß Fremdstoffe nicht wahllos sondern nur nach sorgfältiger Prüfung in unsere Lebensmittel hineingelassen werden dürfen.

L. Lendle (Göttingen): Die Ermittlung zulässiger „Residualkonzentrationen" von Insecticiden in Nahrungsstoffen ist eine wichtige Aufgabe, um die übertriebenen Besorgnisse gewisser Kreise zu zerstreuen. Es ist unmöglich, solche Beweisführungen für Erkrankungen nach Einwirkung von DDT anzuerkennen, wie sie z. B. von Biskind in USA in der Öffentlichkeit verbreitet wurden. Andererseits ist eine Kontrolle darüber notwendig, ob der landwirtschaftliche Produzent sich auch an die ausgearbeiteten Vorschriften hält. Die Gefahr von Vergiftungen mit modernen Schädlingsbekämpfungsmitteln ist nicht zu leugnen. Teleky hat jüngst gesagt, daß „noch zu keiner Zeit so viele und so starke Gifte so leicht zugänglich gewesen seien (abgesehen von Alkohol und Nicotin), wie seit Einführung der Insecticide". Es ist aber kein Grund zu resignieren. Die Entwicklung von guten Nachweismethoden und die Schaffung immer weniger toxischer Mittel ist zu fordern.

K. Soehring (Hamburg): Hinweis auf die Bedeutung der Anwendungstechnik. Im Obstbaugebiet „Altes Land" sind innerhalb von 2 Jahren 15 Vergiftungsfälle festgestellt worden. Dort wird die Anwendung in „Familienwirtschaft" vorgenommen. In den Kreisen Stormarn und Eutin, wo auf „Genossenschaftsgrundlage" durch Fachkräfte gearbeitet wird, fanden sich keine Vergiftungen.

E. Gross (Bonn): Bei Lebensmittelfarben zeigen Tierversuche auf carcinogene Wirkung, soweit sie positiv ausfallen, daß eben der dauernde Kontakt des Farbstoffes mit dem lebenden Gewebe carcinogen wirkt. Es kommt dabei nicht auf Applikationsart, Tierart und Dosierung an. Die Tatsache genügt, um einen solchen Farbstoff für Lebensmittelzwecke auszuschließen. Die Lebensmittelfarbstoff-Kommission der Deutschen Forschungsgemeinschaft hat dem Gesetzgeber für das neue Lebensmittelgesetz eine positive Liste von etwa 20 einwandfreien Lebensmittelfarben empfohlen. Diese wird auch von einer Reihe fremder Staaten akzeptiert.

G. Urban (Berlin): Vor etwa 30 Jahren wurde verhältnismäßig häufig Buttergelb in Lösung zum Färben der Butter benutzt. Es sind jedoch nie Fälle von Lebercarcinom in den betreffenden Familien bekannt geworden, weil das Buttergelb nur in geringster Menge und nur in der lichtarmen Jahreszeit gebraucht wurde, wenn die Grünfütterung wegfiel. Die Ergebnisse des Rattenversuchs lassen sich also wohl nicht ohne weiteres auf den Menschen übertragen. Solange aber nur der Verdacht einer cancerogenen Wirkung im Tierversuch besteht, sind solche Farbstoffe vom Gebrauch als Färbemittel für die Nahrung auszuschließen, zumal in den Carotinfarbstoffen viel bessere Butterfärbemittel zur Verfügung stehen.

D. Schmähl (Freiburg/Br.): Durch Nothdurft wurden die Ergebnisse von Oppenheimer[7,8] sowie von Druckrey und Schmähl[1] bestätigt, nach denen Kunststoff-Folien bei subcutaner Implantation bei kleinen Nagern Sarkome erzeugen. handelt sich also tatsächlich um eine cancerogene Wirkung. Lediglich die Deutungen des Wirkungsmechanismus sind in den einzelnen Arbeitskreisen verschieden.

Nach Hueper[5] erzeugt auch die intravenöse Applikation von Kunststoffen, die im Körper nicht abgebaut werden können, Tumoren; dies spricht dafür, daß die Form des applizierten Materials keine so entscheidende Rolle spielen kann, da es sich hier ja um ein formloses Material handelt.

Herr Oettel hat in seinem Vortrag die Gültigkeit der Summationswirkung[2–4] in Zweifel gezogen. Welche experimentellen Befunde hat er aufzuweisen, die diese Zweifel berechtigen?

Im Freiburger Arbeitskreis wurde die Summationswirkung weiter untersucht, und zwar mit einer Substanz, die nicht Leberkrebs erzeugt, sondern Gehörgangscarcinome. Es handelt sich um 4-Dimethylaminostilben. Dabei ergab sich an mehreren hundert Ratten, daß bei einer täglichen oralen Gabe von 4 mg/kg Körpergewicht die zur Krebserzeugung benötigte Gesamtdosis bei 850 mg/kg liegt. Wird die Tagesdosis kleiner gehalten, dann wird die zur Krebserzeugung benötigte Gesamtdosis (D_{50}) kleiner. Sie beträgt bei einer täglichen Gabe von 2 mg 600 mg, bei 1 mg 400 mg und bei 0,5 mg etwa 250 mg[11,12].

Diese Ergebnisse bestätigen nicht nur die Summationswirkung, sondern erweitern sie und zeigen, daß auch die Zeit einen positiven Beitrag zum Geschwulstwachstum leistet, die Wirkung also verstärkt. Dieser pharmakologische Wirkungsmechanismus der krebserzeugenden Wirkung scheint nicht nur für Amine zu gelten (4-Dimethylaminoazobenzol und 4-Dimethylaminostilben), sondern nach Kreyberg[6] sowie Poel[9] auch für Kohlenwasserstoffe und nach Rajewsky[10] ebenso für Röntgenstrahlen.

Herr Oettel hat die Gefahr der krebserzeugenden Chemikalien mit der Krebs-Angst verglichen, die der Bevölkerung angeblich vor 50 Jahren durch die Benutzung von Aluminium-Töpfen eingeimpft worden ist. Ich möchte glauben, daß wir heute eine ganze Reihe von Substanzen kennen, die erwiesenermaßen am Menschen Tumoren erzeugen, und zwar nicht nur bei den ausgesprochenen Berufskrebsen. Es sei in diesem Zusammenhang an die cancerogene Wirkung von Thorotrast, Radiojod und nicht zuletzt an die wahrscheinliche des Tabakrauchs und der „Air Pollution" erinnert. Es ist Auffassungssache, ob man dies mit einem Aluminium-Topf abtun kann.

Literatur

[1] Druckrey, H., u. D. Schmähl: Z. Naturforsch. **7** b, 353 (1952). — [2] Druckrey, H., u. K. Küpfmüller: Z. Naturforsch. **3** b, 254 (1948). — [3] Druckrey, H.: Acta Unio intern. Cancrum **10**, 29 (1954). — [4] Druckrey, H.: Arzneimittelforsch. **1**, 383 (1951). — [5] Hueper, W. C.: Cancer **10**, 8 (1957). — [6] Kreyberg, L.: persönliche Mitteilung. — [7] Oppenheimer, B. S., E. T. Oppenheimer and A. P. Stout: Proc. Soc. Exper. Biol. a. Med. **67**, 33 (1948). — [8] Oppenheimer, B. S., E. T. Oppenheimer, A. P. Stout, I. Danishefsky and F. R. Eirich: Cancer Res. **15**, 333 (1955). — [9] Poel, W. E.: Science **123**, 588 (1956). — [10] Rajewsky, B.: Rundgespräch exp. Krebsforschung, Hinterzarten 1957. — [11] Schmähl, D., u. R. Mecke: Z. Krebsforsch. **61**, 230 (1956). — [12] Schmähl, D., u. W. Dischler: Krebsarzt (im Druck).

H. Oettel (Ludwigshafen): Die von Herrn Schmähl angeführte angeblich cancerogene Wirkung löslicher Makromoleküle kann unmöglich als Beweis für die cancerogene Wirkung von Kunststoffen herangezogen werden. Hueper (USA)

beobachtete allerdings nach parenteraler Gabe bestimmter hochpolymerer Polyvinyl-Pyrrolidon-Chargen bei Bethesda-black-Ratten bösartige Tumoren. In Versuchen von Hecht und eigenen bewirkte aber Kollidon keine Tumoren. Wir haben uns deswegen von Hueper den Bethesda-black-Stamm schicken lassen und führen zur Zeit Versuche mit diesen Ratten durch, der nach Angabe von Hueper der einzige Rattenstamm der Welt ist, der praktisch keine Spontantumoren bekommt. Nach Druckrey und Schmähl sollen auch bei den DBN-Ratten dieser Autoren praktisch keine Spontantumoren auftreten. Am gleichen Stamm beobachtete aber Schubert gar nicht so selten Spontantumoren. Die genaue Kenntnis der Spontantumorhäufigkeit von Ratten im 2. und 3. Lebensjahr ist notwendig, besonders wenn aus relativ wenig Tieren weittragende Schlüsse gezogen werden.

Eine Summationswirkung unterschwelliger Dosen von Buttergelb ist von Druckrey nicht bewiesen, sondern nur vermutet worden. In der Originalarbeit[1] geht Druckrey von 35 Tumortieren aus, von denen noch einige eliminiert werden, so daß eigentlich nur 26 Tiere als Berechnungsgrundlage dienen. Wenn bereits zur Bestimmung der akuten LD 50 wenigstens 50 Tiere notwendig sind, ist es einleuchtend, daß man die von sehr vielen Faktoren abhängige sogenannte Summationswirkung nicht aus so wenig Tieren ableiten kann. Hier müßten also Versuche auf viel breiterer Basis durchgeführt werden.

Die von Schmähl angeführten Versuche mit Kohlenwasserstoffen sind kein Beweis für die Summationswirkung, sie sind auch von den Autoren gar nicht so gedeutet worden. Eine Summation von Einzelschäden bei der Krebsbildung wäre am ehesten denkbar bei Strahlenschäden. Nach Schubert gibt es aber auch da keine Summationswirkung. Die „Summationsgiftwirkung" unterschwelliger Dosen ist also zwar eine interessante Vermutung, aber keineswegs eine bewiesene Tatsache.

W. Neumann (Würzburg): Bei den von Herrn Schmähl erwähnten Versuchen beweist die bei Herabsetzung der Einzeldosen auftretende Verkleinerung der tumorerzeugenden Gesamtdosis noch keine Summation beliebig kleiner Dosen. Die entscheidende Frage ist, ob sich bei weiterer Verminderung der Einzeldosen nicht doch ein Bereich findet, in dem eine „Summation" auch durch „Auffüllen" nicht mehr nachzuweisen ist. Zur Veranschaulichung diene die subakute Einatmung von Blausäure; Herabsetzung der Konzentration führt hier in einen Bereich, wo die Elimination (durch Überführung von Cyanid in Rhodanid) mit der Resorption Schritt hält, so daß auch relativ hohe Gesamtdosen „unwirksam" werden[2].

F. Brücke (Wien): Obwohl ich bei der vorangegangenen Diskussion nicht zugegen war, erlauben Sie mir doch mit einigen Worten zu dem Diagramm von Herrn Neumann Stellung zu nehmen, da ich es für sehr wichtig halte. Es handelt sich nämlich bei dem Argument von Herrn Druckrey keineswegs darum, festzustellen, daß die carcinogenen Stoffe eine mehr minder ausgeprägte zeitliche Kumulation aufweisen, was ja auch viele andere Stoffe tun, sondern seine Behauptung geht dahin, daß die Wirkung schlechthin überhaupt irreversibel ist, und zwar sogar über mehrere Generationen von Tieren. Dies wäre etwas fundamental Neues und hätte auch wichtige praktische Konsequenzen. Der Beweis wurde aus Experimenten an Mäusen und Ratten ursprünglich so geführt, daß angegeben wurde, es sei ganz gleichgültig, ob man eine krebserregende Substanz in einer einzigen Dosis gebe oder ob man diese Dosis in beliebige Einzeldosen zerteile, die zeitlich aufeinander folgend

[1] „Quantitative Analyse der Krebsentstehung". Druckrey, Kupfmüller, Z. Naturforsch. **3b**, 254 (1948).

[2] Flury, F., u. W. Heubner: Biochem. Z. **95**, 249 (1919). — Flury, F., u. F. Zernik: Schädliche Gase, S. 401 ff. Berlin; Springer 1931.

gegeben werden. Stets wenn die volle Dosis erreicht sei, träten Tumoren auf. Dadurch würde in der Tat bewiesen, daß von der Wirkung der Teildosen nichts verloren geht.

Diese wichtige Schlußfolgerung scheint sich nun im Licht neuerer von Druckrey selbst erhobener Befunde als falsch erwiesen zu haben, da es sich zeigt, daß man bei genügend langer Versuchsdauer mit wesentlich kleineren Dosen auskommt. Es ist eben in den Anfangsexperimenten übertitriert worden, wie wir dies von der Bestimmung anderer kumulierender Gifte (z. B. Digitalis) kennen. Jedenfalls sind wir bis zur Beibringung besserer Beweise berechtigt anzunehmen, daß es eine praktisch irreversible Giftwirkung bei carcinogenen Stoffen nicht gibt, sondern daß auch hier der Tierkörper mit gewissen Dosen fertig wird.

L. Schmidt (Freiburg/Br.): 1. Die toxische Grenzdosis von O-Trikresylphosphat für den Menschen ist unbestimmt. Nach der Literatur dürfte sie bei 1—3 mg/kg Mensch liegen (Creutzfeldt u. Orzechowski, Hetteler u. Bergner). Da die Herstellung eines chemisch reinen Trikresylphosphats fast unmöglich ist, sollte auf die Verwendung dieses Weichmachers verzichtet werden.

2. Die Empfindlichkeit gegenüber O-Trikresylphosphat ist um so größer, je höher die Tiere entwickelt sind. Trotz der unterschiedlichen toxischen Dosen sind die pathologisch-histologischen Veränderungen bei Ratte, Katze und Mensch vollkommen identisch.

3. Herr Oettel hat den vielfach verwendeten Weichmacher Triphenylphosphat nicht erwähnt. Triphenylphosphat ist im Tierversuch nach gemeinsamen Versuchen mit Hierholzer u. Noetzel *genau so toxisch* wie O-Trikresylphosphat. Ebenso stimmen die pathologischen Veränderungen mit jenen bei der O-Trikresylphosphatvergiftung in allen Einzelheiten überein.

4. Gleichgültig, wie toxisch ein Weichmacher ist, wird es wohl immer darauf ankommen, wieviel davon aus einer Folie herausgelöst wird. Denn ganz so harmlos, wie „der Umgang mit Gold und Silber" sind ein Teil der Kunststoffe sicherlich nicht.

H. Oettel (Ludwigshafen): Daß Tri-ortho-kresylphosphat eine höchst unerfreuliche Substanz ist, hoffte ich gezeigt zu haben. Gebrauchsgegenstände dürfen kein Orthokresylphosphat als Weichmacher enthalten, weil die Gefahr besteht, daß durch zufällige Berührung mit Nahrungsfetten der giftige Weichmacher extrahiert wird. Trikresylphosphat muß also auf etwa vorhandenes Orthokresyl mit Ultrarot analysiert werden, da die chemische Analyse zu unempfindlich ist. Wenn Herr Schmidt von „Schädigung durch Kunststoffe im täglichen Leben" sprach, so kann es sich nur um solche zufälligen Vergiftungen von Lebensmitteln mit Tri-orthokresylphosphat handeln.

Die Diskussion darüber, ob orthokresylfreies Trikresylphosphat in Zukunft für Gebrauchsgegenstände verwendbar sein wird, sollte im übrigen zurückgestellt werden bis zum Referat aus dem Würzburger Pharmakologischen Institut, das neue Gesichtspunkte in das Trikresylphosphatproblem bringt.

L. Lendle (Göttingen): Neben den Weichmachern sind besonders die „Stabilisatoren" in Kunststoffen zu beachten. Organische Zinnalkylverbindungen z. B. sind wegen ihrer Kumulationsneigung und ihrer Löslichkeit in Fruchtsäuren, Lipoiden und anderem gefährlich. Die Herstellerfirmen dürfen den toxikologischen Gutachtern solche Beimengungen nicht verschweigen.

H. Oettel (Ludwigshafen): Zweifellos sind bestimmte organische Zinnverbindungen wie z. B. Dibutylzinn außerordentlich toxisch. Solche Verbindungen treten aber höchstens bei der Verarbeitung von Kunststoffen auf. Die von amerikanischer

Seite als Stabilisatoren empfohlenen Zinnverbindungen haben dagegen lange Fettsäureketten, sie sind sehr wenig toxisch. In Deutschland werden sie meines Wissens noch gar nicht benutzt, in Amerika wurde Zinnstearat von Lehman sogar für Nahrungsmittelverpackung freigegeben. Zinnfolie wird zur Nahrungsmittelverpackung schon seit sehr langer Zeit benutzt, wobei gelöstes Zinn ohne Schaden vertragen wurde. Notwendig wird es aber in jedem Falle werden, Zinnstabilisatoren, die für Kunststoffe zur Lebensmittelverpackung geplant sind, eingehend im chronischen Toxicitätsversuch zu prüfen.

Schlußwort. Diskussionsleiter **W. Schulemann (Bonn):** Die Referate: „Gegenwartsprobleme der Toxikologie" sollten zeigen, daß die Pharmakologen gewillt und in der Lage sind, durch Ausführung exakter Laboratoriumsversuche den Gesetzgeber und die Behörden tatkräftig in der Durchführung der Maßnahmen, die zum Schutz gegen Neben- und Giftwirkung geschaffen werden müssen, zu unterstützen.

R. Meier und P. Lichtlen (Basel): Allgemeine Probleme der experimentellen Hypertension

Die Hypertension ist eine Krankheit, bei der das gemeinsame Hauptsymptom zur Zusammenfassung der Krankheitszustände benutzt wird. Es ist deshalb a priori wahrscheinlich, daß nach Art und Ursache verschiedene Krankheitszustände zusammengefaßt werden. Diese Sachlage erfordert fast zwangsläufig, daß sowohl das Hauptsymptom hinsichtlich seiner formalen Elemente als auch die für sein Zustandekommen ätiologisch in Betracht kommenden Faktoren charakterisiert werden müssen. Die Beurteilung beider ist wichtig für die pathogenetischen Zusammenhänge und die therapeutische Beeinflussung.

Bei den verschiedenen Typen der experimentellen Hypertension, die zu diskutieren ist, sind nicht alle Komponenten, die Berücksichtigung finden müssen, in gleicher Exaktheit bestimmbar. Für die Beurteilung der Situation ist deshalb am besten so vorzugehen, daß alle möglicherweise in Betracht kommenden Elemente qualitativ erkannt werden und ihre Bedeutung für den besonderen Fall zu charakterisieren versucht wird. Damit scheint es möglich, die einzelnen und unterschiedlichen Faktoren des Geschehens aufzuzeigen und zu verstehen.

Kreislaufmechanik und Kreislauffunktion als determinierende Hypertensionsfaktoren

Für den Zustand der chronischen Blutdruckerhöhung muß in kreislaufmechanischer Hinsicht die gleiche Gesetzmäßigkeit gelten wie für die Blutdruckerhöhung überhaupt. Durch die ausgezeichneten Untersuchungen von Frank, Broemser und Wezler, Müller, Green, Bazett u. a.[19–23,28–30,49–50] ist gezeigt worden, in welcher gesetzmäßigen Weise die physikalischen Konstanten, Schlagvolumen, Widerstand,

Wandelastizität, Blutvolumen und Blutdruck voneinander abhängig sind. Zu diesen Hauptfaktoren kommen noch sekundär wichtige hinzu.

Die Charakterisierung des kreislaufmechanischen Zustandes bei der menschlichen Hypertension durch Wezler[66] hat gezeigt, daß alle erwartbaren Varianten der Blutdruckerhöhung bei dieser vorliegen können, so Schlagvolumen-, Elastizitäts-, Widerstandshochdruck usw. Weiterhin haben diese Autoren und andere gezeigt, daß die verschiedenen klinischen Typen zwar bevorzugt gewisse dieser Formen darstellen, z. B. Elastizitätshochdruck bei der Arteriosklerose und dem roten Hochdruck, Widerstandshochdruck bei den neurogenen und nephrogenen Formen usw., daß aber in der gleichen klinischen Gruppe auch verschiedene kreislaufmechanische Typen und besonders Mischformen vorkommen. Diese und andere Befunde [62-64] zeigen, daß dem kreislauffunktionellen Zustand und seiner Beurteilung eine erhebliche Bedeutung an sich und auch für die Therapie zukommt. Dem entspricht z. B., daß nicht jedes blutdrucksenkende Mittel klinisch wirksam ist, sondern nur solche, die offenbar bestimmte pharmakodynamische Eigenschaften haben. Es folgt daraus, daß zur Erkennung dieser Zusammenhänge die vollständige Charakterisierung der kreislaufdynamischen Zusammenhänge von entscheidender Wichtigkeit ist.

Bei den verschiedenen Formen der experimentellen Hypertension ist nur relativ wenig über diese Frage bekannt[3,5,25,51,52,57,58,66]. Dieses liegt vor allen Dingen daran, daß die meisten Formen der experimentellen Hypertension am Kleintier untersucht werden, die für die kreislaufmechanische Charakterisierung notwendigen Daten aber im allgemeinen nur am größeren Tier erhoben werden können. Man kann auf Grund der vorliegenden Befunde nur sagen, daß wahrscheinlich die meisten der experimentellen Formen in die Gruppe des Widerstandshochdruckes hineingehören. Die Frage aber, ob eine weitere Analyse und Differenzierung der kreislaufmechanischen Verhältnisse zu anderen Schlußfolgerungen führen kann, muß heute unbeantwortet bleiben. Dies gilt im besonderen für Veränderungen bestimmter Gefäßgebiete, wie der Niere[52], des Gehirns[53], der endokrinen Organe und anderer Gefäßbezirke, deren Durchblutungsänderung als kreislaufmechanischer Faktor oder als Ursache funktioneller Beeinträchtigung des betreffenden Organs Vorbedingung der Auslösung oder Verstärkung der hypertonischen Situation sein kann. Es liegen über die neurogene und renale Hypertension eingehendere Untersuchungen besonders über die Zirkulation in der Niere vor[26,27,51,65,67]. Dies ist im wesentlichen technisch bedingt, da die Nierendurchblutung nur am größeren Tier bestimmt werden kann. Bei beiden Formen kann eine Einschränkung der Nierenzirkulation bestehen, die zum Teil mit Ausscheidungsänderung parallel geht. Schwierig zu entscheiden ist aber, ob diese Änderung als kreislaufmechanischer bzw. als

neuroregulatorisch-reflektorischer Effekt direkt für eine Hochdruckreaktion verantwortlich ist oder sein kann. Wahrscheinlich ist die von der Zirkulation bedingte Nierenfunktionsstörung die Ursache weiterer hypertensiver Konsequenzen. Für andere Gefäßgebiete[18,59,60,61], besonders wenn sie eine besondere Reaktivität im hypertonischen Zustande besitzen, können analoge Möglichkeiten bestehen.

Zur Charakterisierung des experimentell hypertonischen Zustandes ist grundsätzlich die genaue Festlegung der kreislaufmechanischen Faktoren Voraussetzung für das endgültige Verständnis[3,8], besonders auch für die spezifische Wirkung von therapeutischen Stoffen.

Wir werden versuchen müssen, trotzdem bei vorliegender Sachlage im wesentlichen die ätiologischen Faktoren zu behandeln sind, aus indirekten Indizien, z. B. anatomisch-histologischer Art, ein Urteil über diese Verhältnisse zu erhalten.

Ätiologische Faktoren der Hypertensionsauslösung

Die ätiologisch in Betracht kommenden Faktoren sollen unter Einschluß der weniger wichtigen möglichst vollständig diskutiert werden; dies deswegen, weil auch heute noch die Beurteilung einzelner unter bestimmten Bedingungen nur bei Abwägung der Gesamtmöglichkeiten erfolgen kann.

Von den pathogenetisch verschiedenen Formen der experimentellen Hypertension kann eine von den übrigen als von relativ geringem Interesse abgetrennt werden, diejenige, bei der die Hypertension durch mechanische Veränderungen am Kreislauf ausgelöst wird, z. B. bei Aortenisthmusstenose, arteriovenöser Anastomose an geeigneter Stelle, Änderung der Aortenelastizität usw. Diese Typen sind offenbar hinsichtlich der Ursache einem der genannten mechanischen Faktoren am Kreislauf zuzuordnen. Es bleibt bei ihnen vorläufig unklar, welche Mechanismen für die Auslösung des Hochdruckes letzten Endes in Betracht kommen. Bei einzelnen derselben ist durchaus möglich, daß nicht nur die mechanischen Verhältnisse, sondern von diesen abhängige sekundäre Effekte für die Aufrechterhaltung des Hockdruckes von Bedeutung sind. Sie werden zu dem einen oder dem anderen der später zu besprechenden Faktoren in Beziehung stehen.

Als erste wichtige Gruppe experimenteller Hypertension ist die durch Störung *der nervösen Kreislaufregulation* ausgelöste zu behandeln[68–89]. Die nervöse Kreislaufregulation umfaßt nach Untersuchungen von Heymans und Koch u. a.[54,55,56] die verschiedenartigen nervös regulatorischen Mechanismen, die vor allem die Begrenzung des Blutdruckes nach oben bedingen. Es sind fast ausschließlich die zentripetalen Funktionssysteme und die Zentren, die für die Hochdruckauslösung in Frage kommen. Die zentrifugale Bahn, auf welcher der Blutdruckeffekt

ausgelöst wird, ist wahrscheinlich im wesentlichen auch eine nervöse, muß aber nicht unbedingt auf diese beschränkt sein. Sie kann gegebenenfalls weitere Faktoren in den Mechanismus einbeziehen.

Die Auslösungsvorgänge dieses am Hund und z. Teil an der Ratte untersuchten Hypertensionstypus sind die folgenden:

Die Ausschaltung der Pressorreceptoren des Carotissinus und der Aorta[74,80], wie sie besonders von Heymans[79] durchgeführt wurde, die Drosselung der Carotiden[69,72,73,83] und der Vertebralis, Splanchnicusreizung, psychische Effekte[71], besonders audiogener stress[81,85,89], Injektion von geeignetem Material in die Gegend der kreislaufregulatorischen Zentren des Mittelhirns[68,70], Reizung oder Koagulation im Mittelhirn[82,88] und Erhöhung des intrakraniellen Druckes[70].

Es kommen zu diesen „Impulsen" noch eine Reihe anderer, die sicher als mitwirkende Faktoren bezeichnet werden können[88], deren Untersuchung vorläufig nicht genügend vorgeschritten ist. Alle genannten Einwirkungen können zu chronischem Hochdruck führen. Für ihr Wirksamwerden ist notwendig, daß sie entweder permanent sind oder daß sie, wie z. B. der audiogene stress, über längere Zeit erfolgen. In kreislaufmechanischer Hinsicht scheint das Schlag- und Minutenvolumen und die Aortenelastizität usw. normal zu sein. der periphere Widerstand erhöht. Es fehlen im allgemeinen sklerotische Veränderungen der Arterien und Aorta. Der zentrifugale Anteil ist wahrscheinlich im wesentlichen auf das Nervensystem beschränkt, möglicherweise bezieht er aber auch den Nebennierenmechanismus ein. Eine sekundäre Beteiligung der Nieren scheint meistens nicht vorzuliegen, wenn dies auch als funktionelle Änderung (Heymans[79]) nicht ausgeschlossen werden kann[368]. Es kann also dieser Zustand, wenn er als rein neurogen aufgefaßt wird, eigentlich nur so erklärt werden, daß durch den „chronischen" Reiz die Reizschwelle der maßgebenden Zentren oder anderer Mechanismen so verändert wird, daß auch schon normale bzw. endogene Reize zur Unterhaltung des permanenten Hochdruckes ausreichend sind. Die gesamten experimentellen Daten zeigen somit, auch wenn der Mechanismus nicht vollkommen geklärt ist, daß es sich bei diesem Typus des Hochdruckes um eine besondere Form handelt. Dies wird auch durch therapeutische Verhältnisse belegt. Sympathektomie und Ganglienblockierung kann ihn z. B. vollständig beheben.

Als nächste Gruppe der für den Hochdruck wichtigen Faktoren sind die *humoralen* zu besprechen. Unsere Kenntnisse über diese sind in den letzten 20 Jahren außerordentlich erweitert worden. Trotzdem sie für das Zustandekommen der chronischen Hypertension als endogene Einzelfaktoren oder bei experimenteller Applikation nicht mit Sicherheit oder nur in einzelnen Fällen maßgebend sind, ist ihre Besprechung deswegen notwendig, weil sie als mitwirkende oder regulatorische

Faktoren eine erhebliche Bedeutung haben können. Als humorale Faktoren sind sowohl solche zu bewerten, welche für die Erhöhung als auch die Erniedrigung des Blutdruckes maßgebend sind. Die Wirkstoffe an sich, ihre Produktion und ihre Zerstörung und die bei ihnen involvierten Mechanismen sind von Interesse.

Die *pressorischen Faktoren*[444–504] umfassen zunächst die biogenen Amine: Adrenalin[2,63,94], Noradrenalin[1,2,63], Serotonin[475/476] und möglicherweise unbekannte, auch aliphatische Amine[486], außerdem die von Lockett[469,470] beschriebenen „Nicotinbasen". Eine ausschließliche Rolle spielen solche beim Phaeochromocytom. Eine Vermehrung derselben ist bei der experimentellen Hypertension nicht gesichert, doch scheint die Reaktionsbereitschaft des hypertonischen Organismus gegen Adrenalin wie Noradrenalin und Serotonin geändert[63]. Die fermentativen Prozesse sind nach Holtz u. a.[463,464] hinsichtlich des Umsatzes in gewissem Umfange in der erkrankten Niere gestört. Tyrosinase hat einen drucksenkenden Effekt, ohne daß der Angriffsmechanismus bekannt wäre. Als einfache blutdrucksenkende Stoffe sind Histamin, Adenosin und seine Derivate zu nennen. Histamin wirkt bei gewissen Formen der experimentellen Hypertension auffallend stark drucksenkend.

Eine besondere Stellung nimmt das von Schroeder[485–488] beschriebene Pherentasin ein. Seine chemische Struktur ist nicht bekannt, es ist möglicherweise ein Amin. Es wird ziemlich regelmäßig im Blut bei Hypertension gefunden und bewirkt nach Schroeder[485] eine lang anhaltende Blutdrucksteigerung. Befunde bei experimenteller Hypertension liegen nicht vor.

Besonders wichtig scheinen die blutdruckwirksamen Polypeptide mit blutdrucksteigernder Wirkung. Es handelt sich um die folgenden: Vasopressin[448,451,466], Hypertensin I und II[495] und eine gebundene Form des Hypertensins[471/472], Pepsitensin[454,456], sustained pressor principle[462], Nephrin[457], Urohypertensin[444,463–464,467], Cerobrotonin[475], Stoff von Handler u. Bernheim[460–461], V.E.M.[452,473,491–493] und Renin[445,453,478,489,498,499,504]. Kürzlich wurde ein weiteres drucksteigernde Peptid aus Speicheldrüse von Werle[503] beschrieben. Der chemische Aufbau verschiedener ist bekannt, so Vasopressin und Hypertensin (Peart[477], Skeggs[495/496]). Die chemische Struktur wurde bei Vasopressin durch die Synthese von Du Vigneaud[501], die von Hypertensin durch Synthese von Schwyzer[484] erhärtet. Verschiedene im Bau etwas unterschiedliche Okta- und Dekapeptide vom Hypertensin-Typus besitzen blutdrucksteigernde Wirkung, sie sind tierartspezifisch. Die Bedeutung der Hypertensin-Gruppe schien sich am Anfang aus ihrer Freisetzung durch Renin ziemlich einfach zu ergeben. Doch ist heute der Zusammenhang mit der Hypertension nicht mehr als eindeutig zu erkennen[448–450]. Daß mit Hypertensin allein chronische Hypertension hervorgerufen werden kann[448], ist fraglich. Die

Hypertensine und das sustained pressor principle zeigen aber insofern eigenartige Wirkungen, als sie am nierenlosen und hypertonischen Tier lang anhaltende Blutdrucksteigerungen hervorbringen können. Es ist deshalb möglich, daß unter gewissen Umständen Verhältnisse oder Funktionsstörungen in den Nieren vorhanden sind, die eine lang anhaltende Wirkung solcher Peptide bedingen[483,490]. Bei der experimentellen Hypertension wurde bisher nicht nachgewiesen, daß eine vermehrte Menge der Hypertensine im Blut ist oder höchstens am Beginn[450]; für sustained pressor principle ist die Frage nicht völlig klar. Hinsichtlich des fermentativen Umsatzes dieser Stoffe sind bei der experimentellen Hypertension nur zum Teil eingehende Befunde vorhanden, um ihre Bedeutung zu beurteilen, doch scheinen verschiedene Autoren der Auffassung zu sein, daß gewisse Fermente, Renin, Hypertensinase und das sogenannte Reninsubstrat Änderungen aufweisen[451,480,481,497]. Für Renin sind eine Reihe von Beobachtungen vorhanden, die es als wichtig für die Hypertension ansehen lassen[458,459,465], doch gibt es nur wenige Befunde, daß Renin-Anwendung chronische Hypertension hervorrufen kann[93,479]. Sein Gehalt in der Niere ändert sich während der Entwicklung der Hypertension[205], es wird nur vorübergehend vermehrt im Blut gefunden. Es wirkt wie Hypertensin lang anhaltend blutdrucksteigernd besonders am nierenlosen Tier. Es ist formal in vielem ähnlich wie Hypertensin zu beurteilen.

Als blutdrucksenkende Faktoren sind zu nennen: das Kallidin von Werle[502] und Depressan und andere blutdrucksenkende Substanzen aus Urin von Wollheim u. Lange[468] und analoge chemische Typen. Sie sind entweder direkt wirksam oder setzen „fermentativ" aus geeignetem Material wirksame Produkte frei, sie haben eine lang anhaltende blutdrucksenkende Wirkung.

Diese Stoffe wurden zusammengestellt, um zu zeigen, welche Vielzahl von humoralen Faktoren beim Zustandekommen von Hypertension eine Rolle spielen können. Keiner der humoralen hypertensiven Faktoren, wenn sie am Tier angewendet werden, löst allein eine chronische Hypertension aus, mit Ausnahme vielleicht des sustained pressor principle und des Renin. Wenn diese Stoffe somit bei der experimentellen Hypertension eine Rolle spielen und damit auch Objekt der therapeutischen Einwirkung werden, so können sie in diesem Zusammenhang nur unter besonderen Verhältnissen eine wesentliche Rolle spielen. Sie können aber noch andere Wirkungen besitzen, die indirekt im Zusammenhang mit der Blutdruckerhöhung stehen.

Es soll mit dieser Abgrenzung der humoralen Faktoren ebenfalls zum Ausdruck gebracht werden, daß ihre Beteiligung auch bei solchen Formen von Hochdruck, bei der sie, wie beim nephrogenen, selbstverständlich erschien, heute nicht mit Sicherheit oder doch nicht in einfacher Weise belegt werden kann. Es muß trotzdem ihre

ätiologische Beziehung bei allen Typen ohne Voreingenommenheit beurteilt werden.

Daß Eingriffe an der *Niere* Hochdruck hervorrufen können[90–238], ist nach den ersten Befunden von Goldblatt[127,128] in so vielfacher Weise bestätigt worden, daß an der Tatsache kein Zweifel bestehen kann. Folgende Maßnahmen rufen an Hund, Kaninchen und Ratte diesen Effekt hervor: Drosselung der Nierenarterie[93,103,125,137,138], Injektion von Kaolin in die Nierenarterie[179,176,187], Einkapselung der Niere mit verschiedenen Methoden[136,185,195]. Unterbindung der Nierenvene[143], Veränderungen am Nierenbecken und an den ableitenden Harnwegen[143], Sklerose der Niere durch Röntgen bestrahlung[238], durch gewisse chemische Einwirkungen, durch Antinierenantiserum[184]; ferner kann die Drosselung der Aorta oberhalb der Niere nach Hildebrand[151] und die sogenannte endocrine kidney nach Selye[215,216] eine Hypertension auslösen. Bei allen diesen Formen tritt eine Störung der Nierendurchblutung auf, die aber quantitativ relativ rasch wieder hergestellt werden kann, so daß eine absolute Veränderung der Nierendurchblutung nicht vorhanden sein muß. Doch scheint der Mitteldruck wichtig. Trotzdem liegt eine qualitative „Anoxämie", Stoffwechselstörung und Ausscheidungsstörung, in der in dieser Weise beeinflußten Niere vor. Durch Drosselung einer Niere wird vor allem die andere nicht gedrosselte Niere beeinflußt. Diese ist zunächst „allein" für die Aufrechterhaltung der hypertonischen Reaktion verantwortlich (Pickering[202], Wilson[234–236], Floyer[116–117]). Die Drucksteigerung tritt nach mehr oder weniger langem Intervall auf. Geschwindigkeit und Stärke ihrer Entwicklung zeigen eine Abhängigkeit vom Geschlecht der Tiere; weibliche Tiere zeigen rascher eintretende und stärkere Hypertension[348]. Sie ist im allgemeinen durch eine Steigerung des peripheren Widerstandes, meist ohne Erhöhung des Schlag- und Minutenvolumens, gekennzeichnet. Ferner sind immer anatomische Veränderungen in der nicht gedrosselten Niere oder beiden vorhanden, außerdem treten Veränderungen an großen Teilen des Gefäßsystems in Form sklerose-artiger Vorgänge, Wandverdickungen der muskulären kleineren Arterien auf, verschiedene Organe werden durch diese Maßnahmen bevorzugt beeinflußt. Hinsichtlich der Beteiligung neurogener Faktoren bei dieser Form der Hypertension ist zu sagen, daß die Kreislaufreflexe bei ihnen vielleicht partiell gestört sind. Die Situation der humoralen Faktoren ist nicht einfach zu beurteilen. Es schien zunächst alles dafür zu sprechen, daß das in der Niere vorhandene Renin der ursächliche Faktor bei der renalen Hypertonie ist. Diese Vorstellung wurde aber mehr und mehr eingeschränkt. Es wird am Anfang der Drosselung und bei gewissen Tieren Renin in vermehrter Menge in der Niere gefunden (Braun-Menendez[450], Gross[144]), bei anderen Tierarten verschwindet es später aus der erkrankten Niere, es wird aber bei diesen Fällen nur am Beginn vermehrt

Renin oder Hypertensin im Blutserum gefunden, später nicht mehr. Ähnlich verhält sich V.E.M. (Shorr[491–494]). Sustained pressor principle soll auch im späteren Verlauf noch vermehrt im Nierenvenenblut vorhanden sein. Ebensowenig scheinen andere humorale Faktoren in diesen Zuständen, mit Ausnahme vielleicht von Pherentasin und Nicotinbase, vermehrt aufzutreten. ACTH und somatotropes Hormon soll sie verstärken. Es ist damit aber die Frage nicht vollständig geklärt, ob Renin bei dieser Hypertensionsform nicht doch eine wesentliche Rolle spielt. Es sind kürzlich Beobachtungen von Read u. Tobian[429–433] mitgeteilt worden, daß auch eine kurz dauernde Einwirkung von Renin und Hypertensin die chemische Zusammensetzung der Arterienwand ändert, besonders hinsichtlich ihres Gehaltes an Natrium und Kalium, Kreatinphosphorsäure usw. Es ist also nicht ausgeschlossen, daß Renin in kleiner Menge zirkulierend, besonders wenn seine Zerstörung verhindert wird, einen besonderen Effekt auf die Reaktivität oder andere Faktoren der Gefäße besitzt. Die Auffassung, daß Renin trotz allem wichtig ist, wird weiterhin dadurch gestützt, daß unter gewissen Umständen Antirenin nach Wakerlin[225–230] die experimentelle Hypertension renalen Ursprungs beeinflussen kann. Wakerlin[230] hat wohl nicht unbedingt gezeigt, daß die Ausschaltung des Renins der „Wirkungsfaktor" ist, es kann aber irgendein in diesem Zusammenhang passendes Phänomen die Ursache des therapeutischen Effektes sein. Die Phänomene des Renin-Umsatzes sind nicht genügend untersucht; es besteht die Möglichkeit, daß Renin in einer Form vorhanden ist, welche zwar nicht als blutdrucksteigerndes Agens nachgewiesen werden kann, aber trotzdem die Gefäßveränderungen und andere Effekte unterhält. Möglichkeiten für letztere können in bestimmter Richtung gesucht werden.

Es kann nach primärer Einwirkung auf die Nieren mit nachfolgender Nierenexstirpation oder dieser allein eine Hypertension auftreten, wenn die Tiere (Hund, Ratte) durch Dialyse am Leben erhalten werden. Trotzdem diese Tiere naturgemäß in unübersehbarer Weise verändert sind, spricht der Befund doch dafür, daß ohne Niere ein „extrarenaler Zustand" geschaffen werden kann, der Hypertension bedingt. Die Bedeutung nicht vorhandener Nieren in dieser Situation scheint darin zu bestehen, daß eine Funktion der Niere fehlt, die nicht die Ausscheidung ist, da bei Implantation der Ureterin die Cava bei vorhandenen Nieren keine Hypertension auftritt (Grollman[142]). Dieser „extrarenale Faktor" scheint kein neurogener und auch kein humoraler, akut blutdrucksteigernder zu sein. Es ist wahrscheinlich, daß er im Zusammenhang mit andersartigen Faktoren stehen muß. In diese Richtung weist, daß bei Nierenexstirpation Störungen der Elektrolytverteilung auftreten[422]. NaCl fördert ihre Entwicklung; von Orbison et al.[426] wurde z. B. angegeben, daß

Hypertension nach Nephrektomie durch i.v. NaCl-Injektion beschleunigt und verstärkt werden kann. Außerdem wird der Hochdruck durch ACTH, S.T.H. und andere Maßnahmen gefördert.

Untersuchungen von PICKERING[262–205], GREEN[136], WILSON[234–236] u. a., die der ganzen Frage des nephrogenen Hochdruckes einen neuen Aspekt gegeben haben, ergaben, daß die Blutdruckerhöhung durch Nierendrosselung (FLOYER[116–117]) nur bei Vorhandensein der Nebennieren und/oder der Hypophyse zustande kommt. Es ergibt sich also, daß für den in der Niere ausgelösten Mechanismus, sei er nun welcher Art er sein möge, ein Nebennierenfaktor notwendig ist, um ihn wirksam werden zu lassen. Beim Hund ist dies nicht mit Sicherheit nachgewiesen (COLLINS[103]). Diese und andere Beobachtungen führten dazu, eine Reihe von Nebennierenfaktoren neben den in der Nebenniere auch entstehenden biogenen Aminen auf ihre Bedeutung für die Erzeugung experimentellen Hochdruckes zu untersuchen.

Es kann heute mit Sicherheit gesagt werden, daß folgende *Nebennierenfaktoren*[239–318] chronische Hypertension an der Ratte hervorrufen können: Desoxycorticosteron, Cortison (SELYE[303]), Hydrocortison[261], Aldosteron[276,283], dann eine von SKELTON[301–306] beschriebene Einwirkung, die squeezed adrenals, außerdem die Behandlung mit Methylandrostendiol nach SKELTON[307], welche nur bei vorhandenen Nebennieren und bevorzugt an Weibchen auftritt. An anderen Tierarten liegen die Verhältnisse weniger klar, sicher ist, daß Desoxycorticosteron am Kaninchen keine Hypertension hervorruft (MASSON[291a], VERNIORY[318b]). Es sind an der Ratte weiterhin Befunde erhoben, daß Stoffe, die Analogien zu Nebennierenrindensteroiden haben, blutdrucksenkende Wirkung hervorrufen können, wie das Maleinsäure-Addukt des Pregnatrien. Auch ist, vorläufig nur von HUFFMAN[532], angegeben worden, daß ein Androsten 3β-16α-diol eine anhaltende blutdrucksenkende Wirkung besitzt. Auch STURTEVANT[554] hat blutdrucksenkende Steroide beschrieben. Diese Befunde zeigen mit Sicherheit, daß bei bestimmten Tierarten in der Nebenniere verschiedene Faktoren vorhanden sein können, welche für die Blutdruck-, besonders für die chronische Blutdruckregulation von Bedeutung sind. Für ihr Wirksamwerden spielen verschiedene mitwirkende Faktoren eine Rolle: der Desoxycorticosteron-Hochdruck tritt nur auf, wenn gleichzeitig viel Kochsalz vorhanden ist, während beim Cortison- und Cortisolhochdruck ein Kochsalzüberschuß nicht notwendig ist. Weibliche und männliche Tiere zeigen deutliche Unterschiede des Hypertensionsverlaufes (SELYE[303]). Kombination von Desoxycorticosteron und Cortison führt zu einer verstärkten Hochdruckwirkung in Gegenwart von Kochsalz, trotzdem sich, wie bekannt, die Wirkungen dieser Steroide an anderen Objekten in vielfacher Weise entgegengesetzt verhalten. Ähnliche Verhältnisse scheinen beim Hochdruck

durch squeezed adrenals, der mit NaCl und Eiweiß verstärkt wird, und beim Methylandrostendiol-Hochdruck vorzuliegen. Doch ist bei den beiden auch bei Methylandrostendiol, die Nebenniere für die Erzeugung des Hochdruckes notwendig, während dies bei Desoxycorticosteron- und Cortison-Hochdruck nicht der Fall ist. Die Entwicklung der durch „squeezed adrenals" ausgelösten Hypertension wird durch Hypophysektomie und durch Verhinderung der Nebennierenregeneration z. B. durch Cortison gehemmt[309]. Es ist somit möglich, daß ein sekundäres „Produkt" der verantwortliche Faktor ist. Bei allen Formen, auch den erstgenannten, ist nicht bekannt, welches „Umsetzungsprodukt" der Steroide de facto die Ursache der Hypertension ist.

Die vorliegenden Befunde zeigen eindeutig, daß diese Hypertensionsformen nicht in jeder Beziehung als identisch angesehen werden können, trotzdem sie gemeinsame Züge aufweisen. Hierfür sprechen auch andere Untersuchungen.

Im allgemeinen führen die „endokrinen" Formen von Hypertension zu Veränderungen der Arterien, diese sind bei Desoxycorticosteron wesentlich ausgesprochener und anders lokalisiert als beim Cortison[401]. Cortison führt vor allen Dingen zu Veränderungen in den Nieren, aber weniger zu Veränderungen an anderen Arterien. Bei der Methylandrostendiol-Hypertension und den von Skelton[307] beschriebenen Hypertensionsvorgängen bei squeezed adrenals finden sich ebenfalls besonders geartete Arterienveränderungen. Ein geschlechtsgebundener Faktor ist für diese Reaktionsform wichtig. Merkwürdigerweise liegen nur wenige Versuche über Belastungen mit Salz/Wasser usw. vor, doch sprechen einzelne dafür, daß besonders bei Desoxycorticosteron-Hypertension eine veränderte Na-Bilanz vorliegt. Auch die Salz/Wasseraufnahme bei freier Nahrungswahl ist bei Cortison-Hochdruck different und gestört. Das gleiche gilt für die Elektrolyt- und Wasserverteilung im Gewebe. Die vorliegenden Befunde zeigen (Ledingham[422–424]), daß in allen Fällen anormale, aber verschiedenartige Verhältnisse vorliegen.

Sie scheinen somit nur ein Indiz für ein wirklich maßgebendes Phänomen zu sein. Versuchen wir dieses zu charakterisieren, so ist zu sagen, daß die biogenen Amine usw. anscheinend nicht verändert sind, es zeigt sich aber eine qualitativ verschiedene Wirkung bei Adrenalin, Arterenol und Serotonin und verstärkte Wirkung von Hypertensin, Renin und Pitressin (Page[12]); auffallend ist, daß Histamin bei diesen Tieren stark blutdrucksenkend wirkt. Die neurogenen regulatorischen Verhältnisse scheinen nicht gestört.

Bemerkenswert ist, daß in gewissen Fällen von Hypertension, wie Gross[274] zeigen konnte, der Renin-Gehalt der Nieren abnimmt. Befunde über den Gehalt im Blut liegen nicht vor.

Veränderungen im Natrium-Kalium-Gleichgewicht in den Nieren und wahrscheinlich auch in den Arterien, ähnlich wie nach Renin- und Hypertensinbehandlung, scheinen ebenfalls vorhanden. Es kann somit sein, daß in dieser Richtung ein Zusammenhang zwischen den verschiedenen Hochdruckformen besteht.

Die Bedeutung der Veränderung der Nieren bzw. ihrer „Produkte" für die endokrinen Hochdruckformen ist nicht genau bekannt, sie werden meist durch unilaterale Nephrektomie verstärkt.

Als besondere Form dieser Reihe ist noch der sogenannte post-D.C.A.-Hochdruck zu nennen, der nach Absetzen einer D.C.A.-Vorbehandlung bestehen bleibt. Der Zustand bleibt bei einer gewissen Anzahl von Tieren bei Erhaltung der histopathologischen Veränderungen für lange Zeit konstant. Die Anwesenheit der Nebennieren für seinen Bestand wird als nicht unbedingt notwendig angesehen, während Hypophysen-Entfernung ihn aufhebt. Da einseitige Nephrektomie ihn partiell verhindert, ist anzunehmen, daß die erzielten Nierenveränderungen bei ihm eine Rolle spielen. Diese Befunde sprechen dafür, daß abhängig von der primären Störung eine persistierende andere erzielt wird, die nicht mehr an die Anwesenheit des primären auslösenden Agens gebunden ist. In dieser Beziehung ähnelt der Zustand der postnephrogenen Hypertension, ohne sich mit ihr zu decken.

Der Vollständigkeit halber sei noch auf einige Formen der Hypertension hingewiesen, die durch andere Faktoren ausgelöst, doch den vorgenannten in mancher Beziehung zuzuordnen sind.

Nach chronischer Behandlung mit großen Kochsalzdosen ist an der Ratte eine Hypertension zu erzielen, wobei offenbar ziemlich tiefgreifende Veränderungen des Natrium- und Kalium-Gleichgewichtes und Wasserstoffwechsels auftreten (Meneely[331,332]). Der Mechanismus dieser Hypertension ist nicht geklärt, doch ist es wohl naheliegend, im Zusammenhang mit den vorstehenden Formen anzunehmen, daß auch bei dieser Form eine Störung endokriner oder analoger Faktoren erfolgt, die letzten Endes die Ursache der Hypertension sind. Sie wird durch Adrenalektomie und einseitige Nephrektomie nicht beeinflußt.

Eine andere Form stellt wohl die durch Cholinmangel ausgelöste dar (Moses[333]), die zu Nierenveränderungen und letzten Endes auf Grund derselben zu einer Hypertension führt. Der Mechanismus ist im einzelnen unbekannt.

Als letzte Form experimenteller Hypertension ist die von Goormatigh u. Handovsky[327,363] beschriebene zu erwähnen, die an Hunden bei Einwirkung von Ergosterin und Eingriff an der Schilddrüse bzw. Nebenschilddrüse auftritt. Nur unter gewissen Umständen kommt es zu einer erhöhten Reaktivität der Arterien und Hypertension. Im allgemeinen kommt es zu schweren arteriosklerotischen Veränderungen, die

möglicherweise aber im Zusammenhang mit der beobachteten Hypertension stehen. Befunde von Lehr[285–288] haben das Zustandekommen von arteriosklerotischen Veränderungen bei Ratten auf ein Zusammenwirken eines Nierenschadens und der Nebenschilddrüse zurückgeführt. In einer neuesten Arbeit zeigt der gleiche Autor, daß Entfernung der Nebenschilddrüsen die Entwicklung des renalen Hochdruckes verhindern kann. Eger[111] zeigte andererseits, daß Injektion von Parathormon an der Ratte zu vorübergehender Blutdrucksteigerung führt. Weiterhin ist bemerkenswert, daß bei Abwesenheit der Nebenschilddrüsen Desoxycorticosteron keine Arterienveränderungen mehr hervorruft. Wieweit die Nebenschilddrüsen für die endokrine Hypertension und andere Formen notwendig sind, bleibt zunächst ungeklärt. Es scheint aber möglich, daß Hormonstoffe der Nebenschilddrüse einen zu beachtenden weiteren extrarenalen Hypertoniefaktor darstellen.

Zusammenhang der ätiologischen Faktoren

Die Wichtigkeit der verschiedenen ätiologischen Faktoren im Einzelfalle zu beurteilen, bietet auf Grund der vorstehenden Ausführungen erhebliche Schwierigkeiten, besonders wenn nicht nur der Mechanismus der Auslösung der Hypertension beurteilt werden soll. Dieses beruht vor allem darauf, daß im Verlaufe der Hypertension die exakte Bedeutung der einzelnen Faktoren unbekannt bleibt und der auslösende Faktor nicht mehr oder nicht allein als verantwortlich angesehen werden kann.

Diese Situation macht notwendig, die Kombinationswirkung möglichst vieler der in Frage kommenden Faktoren zu beurteilen, da nur dieses die Bedeutung der verschiedenen in einem gegebenen Fall zu charakterisieren erlaubt. Dieses Vorgehen erfordert erheblichen Aufwand, da an sich Kombinationen von allen Faktoren in allen Zuständen zu untersuchen sind.

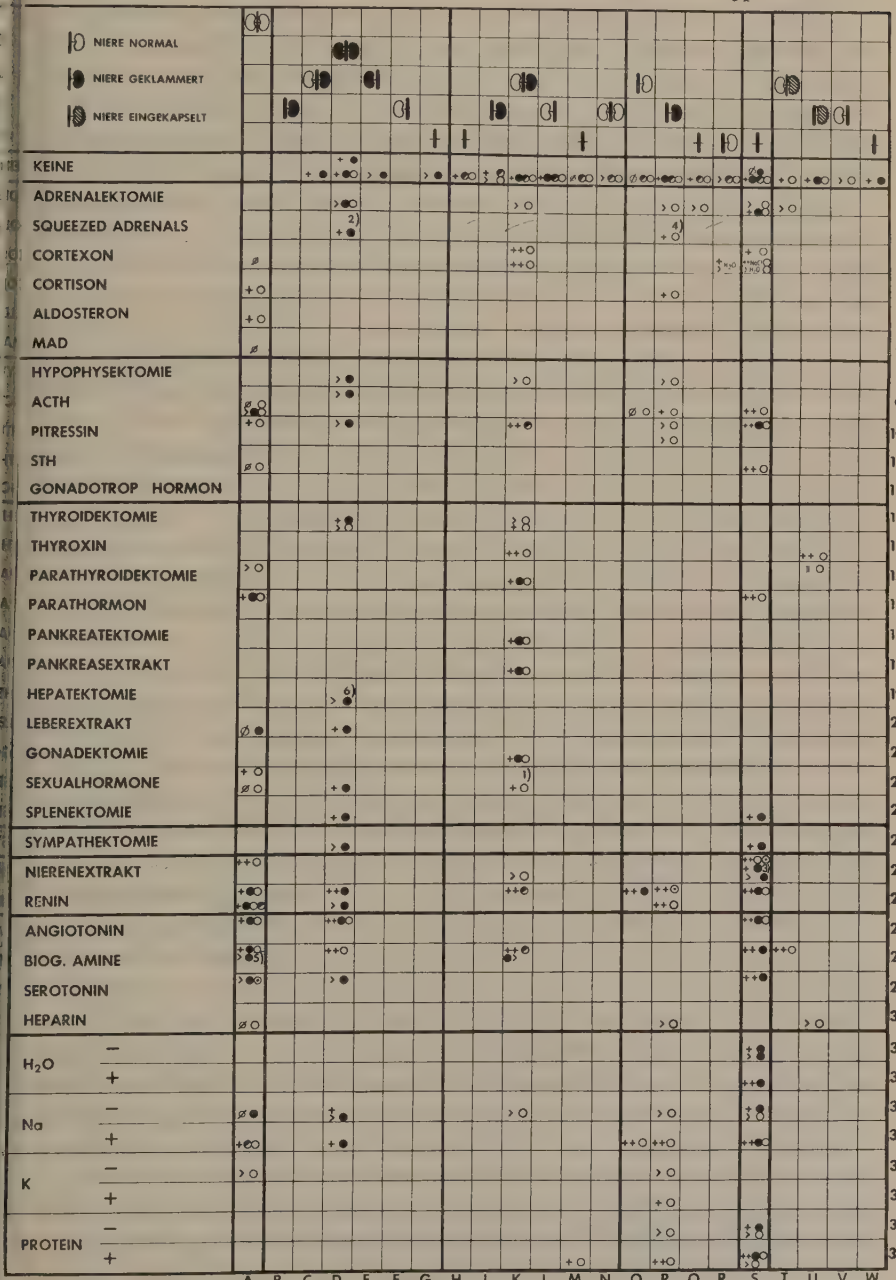
Wir haben die vorliegenden Daten so zu einer leicht übersehbaren Darstellung gebracht, daß wir für ausgewählte Formen der experimentellen Hypertension den antagonistischen wie synergistischen Effekt aller in Frage kommenden Faktoren und Maßnahmen tabellarisch zusammengestellt haben.

Eine solche Zusammenstellung der Daten erlaubt vor allem auch die besonders wichtige Beurteilung der Vollständigkeit bzw. Unvollständigkeit unseres Wissens und die in der Komplexheit der Verhältnisse liegenden Ursachen der Beurteilungsschwierigkeiten.

Auf Grund dieser Zusammenfassung sollte es, wenn überhaupt, möglich sein, den oder die Faktoren zu ermitteln oder abzugrenzen, die letzten Endes neben oder als Folge des auslösenden für die zustandekommende Hypertension verantwortlich sind.

Tabelle 1

Hypertonie bedingende Faktoren und ihr Zusammenhang. Renale Hypertension



1) ♀
2) PARTIELLE ADRENALECTOMIE
3) IMPLANTATION EINER NIERE
4) MEDULLECTOMIE
5) NACH THYROIDECTOMIE
6) DROSSELUNG DER ARTERIA HEPAT. UND VENA PORTAE

EINWIRKUNG: akut / chron.

- ● HUND
- ⊙ KATZE
- ◔ KANINCHEN
- ○ RATTE

- \+ HOCHDRUCK
- ++ HOCHDRUCK VERSTÄRKT
- › HOCHDRUCK ABGESCHWÄCHT
- ⌀ KEINE WIRKUNG

Als Hauptbeispiel haben wir die *renale Form der experimentellen Hypertension* in allen ihren Varianten gewählt mit den entsprechenden Normalzuständen und Folgezuständen, bei Entfernung der normalen, der oder den beeinflußten und der oder den beiden vorhandenen Nieren. Diese Aufstellung gibt eine Reihe von Möglichkeiten des Zusammen- oder Nacheinanderwirkens der renalen Faktoren mit anderen (Tab. 1).

Die waagerechte Kolonne (1) zeigt den Effekt der an der oder den Nieren vorgenommenen Veränderungen auf den Blutdruck. Sie umfassen Drosselung, Entdrosselung und Wegnahme der einen oder beider Nieren. Art und Folge der Veränderungen haben einen bestimmten Einfluß auf den sich ergebenden Zustand.

Die Befunde sind die folgenden. Drosselung beider Nieren und Entdrosselung der einen bewirken Hochdruck, Drosselung einer Niere bei zwei vorhandenen bewirkt Hochdruck, Entdrosselung dieser einen bewirkt Normalisierung, Fortnahme der gedrosselten läßt den Hochdruck bestehen bleiben, der normalen läßt teils Normalisierung eintreten, teils tritt Hochdruck wieder ein. Die analogen Maßnahmen bei einer anwesenden Niere geben ähnliche Resultate. Bemerkenswert ist, daß bei Wegnahme der noch vorhandenen beiden oder einer Niere in unterschiedlicher Weise der Postnephrektomiehochdruck eintritt. Die Methode der Einkapselung ergibt analoge Ergebnisse.

Die senkrechte Kolonne 1 stellt die Wirkung der additionellen Faktoren und Maßnahmen bei normalen Nieren dar. Aus ihr ergibt sich vor allem, daß nur wenige der zusätzlichen Faktoren allein eine chronische Hypertension bewirken, nur Cortison, NaCl-Zufuhr und Renininfusion unter bestimmten Bedingungen. Eine Reihe anderer bewirken akute Blutdruckerhöhungen passageren Charakters am Normaltier, unter ihnen ist besonders Renin, Hypertensin, Parathormon zu erwähnen.

Die kombinierte Wirkung der zusätzlichen Faktoren ergibt sich aus den weiteren senkrechten Kolonnen. Nur für einzelne Kombinationstypen liegen genügende Varianten vor, um ein Urteil zu erlauben, so besonders für Drosselung beider Nieren und Drosselung einer Niere bei normaler zweiter. Es ist erstens ersichtlich, daß Adrenalektomie und Hypophysektomie, möglicherweise auch Thyreoid/Parathyreoidektomie, aber auch alleinige Ausschaltung der Schilddrüsenfunktion, die Hypertension aufheben, daß Cortexon und Thyroxin sie verstärken. Die Wirkung von blutdrucksteigernden Stoffen im akuten Versuch ist für Renin (Angiotonin) und biogene Amine verstärkt, ebenso die Wirkung des Pitressins. Das Geschlecht der Tiere hat einen deutlichen Einfluß auf Eintritt und Stärke der Hypertonie. Es ist somit sicher, daß für die renal bedingte Hypertension andere Faktoren sowohl hinsichtlich verhindernder Komponenten wie verstärkender Komponenten wichtig sind. Keiner der Faktoren ist offenbar allein determinierend.

Besonders bemerkenswert sind noch die Werte am nephrektomierten Tier (Kolonne 5). Diese zeigt sehr eindeutig, daß an diesem Hypertension auftreten kann. Dies heißt, daß ein „Nierenfaktor" nicht unbedingt notwendig ist, wenn bestimmte andere Bedingungen erfüllt sind. Diese Hypertension kann nach einzelnen Autoren durch Adrenalektomie verhindert werden, nach anderen nicht. Der Effekt der Hypophysektomie ist unsicher. Es scheint zum mindesten, daß ein Nebennierenfaktor wichtig sein kann. Weiterhin von Bedeutung erscheint, daß ACTH, STH, Parathormon die Hypertension verstärken. Diese Befunde machen wahrscheinlich, daß bei Vorhandensein von Bedingungen, die dem „Fehlen" der Nieren entsprechen, analoge Verhältnisse vorliegen können. Auch NaCl-Zufuhr verhält sich ähnlich. Von ganz besonderer Wichtigkeit scheint, daß die akute Wirksamkeit von blutdrucksteigernden Stoffen, besonders Renin, Angiotonin, Pitressin, erheblich gesteigert ist. Dies ist wie gesagt auch beim nierengeklammerten und Desoxycorticosteron behandelten Tier der Fall, so daß wohl sicher diese Empfindlichkeitsänderung durch einen „fehlenden Nierenfaktor" bedingt erscheint. Auch beim normalen Tier bewirken Angiotonin und Renin eine Blutdrucksteigerung, doch ist diese erheblich geringeren Ausmaßes und vor allem von wesentlich kürzerer Dauer.

Die Übersicht ergibt also einige bemerkenswerte Schlußfolgerungen, sie zeigt aber auch, daß viele Lücken vorhanden sind, die auszufüllen wären. Weiterhin ist manche Schlußfolgerung schwierig, weil sich Befunde an verschiedenen Tierarten und von verschiedenen Autoren widersprechen. Es wird aber sehr deutlich, daß für jeden chronisch hypertonischen Zustand mehrere determinante Faktoren verdächtigt und charakterisiert werden müssen.

Das zweite Beispiel stellt die Nebennierenfaktoren in Kombination mit den restlichen Faktoren dar (Tab. 2). Die Aufführung der Nieren als „zusätzliche" Faktoren, die an sich bereits in Beispiel I behandelt wurden, dient einerseits der Vollständigkeit, andererseits aber folgt die Nierenveränderung der Nebennierenbeeinflussung, während in Beispiel 1 die umgekehrte zeitliche Folge vorliegt.

Die Daten in dieser Tabelle sind spärlicher, doch zeigt sie einige wichtige Ergebnisse. Die waagerechte Kolonne 1 gibt die Wirkung der Nebennierenfaktoren beim normalen Tier. Cortexon ohne NaCl macht praktisch keinen Hochdruck, während Aldosteron dies anscheinend tut (?). Cortison bewirkt Hochdruck ohne NaCl usw.

Auffallend ist die verstärkende Wirkung von NaCl auf die hypertensive Wirkung von Cortexon und Methylandrostendiol.

Die Daten für die Wirkung der zusätzlichen Faktoren wurden bereits zum Teil in Tab. 1 behandelt. In der senkrechten Kolonne I und II finden sich nur einzelne Daten über Adrenalektomie und bei squeezed adrenals, die nicht sehr aufschlußreich sind.

Tabelle 2

Hypertonie bedingende Faktoren und ihr Zusammenhang. Endokrine Hypertension

	ADRENALEKTOMIE	SQUEEZED ADRENALS	CORTEXON	CORTISOL	CORTISON	ALDOSTERON	CORTEXON + NaCl	CORTISOL + NaCl	CORTISON + NaCl	ALDOSTERON + NaCl	POST-DCA	MAD	MAD•DCA	SEXUAL-HORMONE	NaCl	
	A	B	C	D	E	F	G	H	I	K	L	M	N	O	P	
KEINE	› ○	⌀ ○	⌀ ○	+ ○	+ ○	+ ○	⌀ ●○	+ ○	+ ○	+ ●○	+ ○	+ ○ [1]	++○	+ ○	+ ○	40
ADRENALEKTOMIE			⌀ ○		+ ○		++○		› ○		+ ○	› ○			+ ○	41
Na +		+ ○					++○									42
Na −							› ○				+ ○				++○	43
K +																44
K −							› ○				+ ○					45
H_2O +		› ○					› ○				+ ○				› ○	46
H_2O −																47
PROTEIN +																48
PROTEIN −							› ○									49
HYPOPHYSEKTOMIE		› ○					› ○				› ○					50
ACTH							+ ○				+ ○					51
PITRESSIN							++○									52
STH	⌀ ○						› ○	› ○	› ○							53
GONADOTROPES HORMON							+ ○								+ ○	54
THYROIDEKTOMIE							++○									55
THYROXIN							› ○				+ ○	› ○				56
PARATHYROIDEKTOMIE	›› ○						++○									57
PARATHORMON							› ○				+ ○					58
GONADEKTOMIE																59
SEXUALHORMONE											+ ○					60
RENIN	+○●						++○●		++○						++○	61
ANGIOTONIN	+○●						++○									62
BIOG. AMINE							++○									63
HEPARIN							› ○									64
NEPHREKTOMIE (UNIL.)		+ ○					++○		++○		› ○	++○			++○	65
NIERENEXTRAKT														› ○		66
UNIL. KLAMMERUNG + NEPHR.	⌀●○				++○ [2]										++○	67

1) ♀

2) KALIUM ARME ERNÄHRUNG

Wichtige Daten sind hingegen wieder in der senkrechen Kolonne Cortexon + NaCl vorhanden. Adrenalektomie verstärkt in diesem Falle, ebenso somatotropes Hormon und Thyroxin, während Hypophysektomie, Parathyreoidektomie und andere Maßnahmen, K, Protein Mangel die hypertensive Wirkung aufheben. Renin, Angiotonineffekt und derjenige biogener Amine werden im akuten Versuch verstärkt analog wie nach Nephrektomie. Das weibliche Geschlecht ist bei der Ratte bevorzugt empfindlich.

Interessant sind auch die Daten für Post DCA Hochdruck, der sich in manchen Punkten ähnlich, in anderen verschieden verhält. Adrenalektomie verhindert ihn nicht, während Hypophysektomie dieses tut. Entfernung einer Niere setzt ihn teilweise herab. ACTH, Thyreoidektomie, Parathyreoidektomie, Gonadektomie lassen ihn unbeeinflußt. Diese Form zeigt somit „renale" Komponenten.

Es ist zuzugeben, daß einzelne Daten vielleicht nicht genügend belegt sind, doch ändert dies nichts an der Schlußfolgerung, daß die determinierenden oder mitwirkenden Faktoren von Fall zu Fall verschieden sind.

Wir haben eine Reihe analoger Kombinationstabellen für sämtliche andere Faktoren bearbeitet, sie sind zum größten Teil zu lückenhaft, ihre Diskussion würde hier zu weit führen, trotzdem einige Daten z. B. die bei neurogener Hypertension interessant sind.

Besonders einige Schlußfolgerungen hinsichtlich der allgemeinen Situation werden auf Grund der Tabellen erkenntlich.

1. Es existieren außergewöhnlich vielseitige Möglichkeiten der ätiologischen Determinierung des hypertensiven Zustandes durch verschiedenartige Kombinationen der ätiologisch überhaupt in Betracht kommenden Faktoren. Akute und chronisch wirkende, synergistische und antagonistische haben differenzierte Bedeutung.

2. Die auslösenden hypertensiven Faktoren bestimmen nicht allein den sich entwickelnden Zustand, sie können sogar in einzelnen Fällen bedeutungslos werden.

3. Für gewisse Zustände, so den renalen und endokrinen Hochdruck lassen sich die den chronischen Zustand determinierenden Faktoren als ein Spektrum ausgewählter Einflüsse charakterisieren, das für die Einzelfälle bestimmte Gruppierung dieser Faktoren aufweist.

Diese Schlußfolgerungen machen die Komplexheit und die sicher vielseitige Determiniertheit der biologischen Situation eindrücklich und lassen besonders die Richtung weiterer analytischer Betrachtung klar erkennen.

Für die Beurteilung der Gesamtlage bei der experimentellen Hypertension sind aber noch eine Reihe von anderen Problemen zu behandeln.

Qualitative Unterschiede der Hypertensionsformen in anderer Hinsicht (Tab. 3)

Um ein vollständiges Bild des patho-physiologischen Zustandes zu erhalten, ist es notwendig, die gleiche Form der tabellarischen Auswertung auf zahlreiche andere auftretende Symptome auszudehnen und

Tabelle 3

			ADRENALEKTOMIE	SQUEEZED ADR.+NaCl	+H_2O CORTEXON	+H_2O ALDOSTERON	+H_2O CORTISON/OL	+H_2O MAD	+NaCl +UNILAT. NEPHR. CORTEXON	+NaCl +UNILAT. NEPHR. ALDOSTERON	+NaCl +UNILAT. NEPHR. CORTISON/OL	+NaCl +UNILAT. NEPHR. MAD	+NaCl +UNILAT. NEPHR. POST-DCA	NaCl						AORTENSTENOSE	
			A	B	C	D	E	F	G	H	I	K	L	M	N	O	P	Q	R	S	
MORPHOLOGISCH-ANATOMISCHE VERÄNDERUNGEN	GEFÄSSE	Aorta/Arterien		+					++		+	+	+	+	(+)	(+)			+		7
		Arteriolen (Periart. n.)		+			(+)		++		+	+	+	+	(+)	(+)	(+)		++		7
	HERZ	Gewicht/Grösse					(+)		++		+	+	+	+	(+)	(+)	+	+	(+)	++	7
		Myocardläsionen		+			(+)		++		+	+	+	+					+		7
	NIERE	Gewicht/Grösse		−					++		(+)			+	−−		−·−·	+			7
		Läsionen		(+)			(+)		++		+			+	+++	(+)	+				7
	NEBENNIERE	Grösse		+	−	−	−		−	−	−		−								7
		Läsionen		+					+					+							7
	BINDEGEWEBE (Granulombildung)				(+)				+												7
FUNKTIONELLE VERÄNDERUNGEN	NIERE	Reningehalt	++		+	+	+		Ø	Ø	+	Ø	Ø	Ø	····	··	Ø ··	Ø			7
	H_2O Menge	Trinkmenge							++	+	+		+	+	+		+		−		8
		Diurese							++	+	+		+	+	+		+		−		8
		Plasmavolumen	−						+		+			+			+		+		8
		ECFV (Oedeme)	−						+		+			+	+				+		8
	ELEKTROLYTE Na	Plasma	−		++	++			++	+											8
		Gewebe	++		−	−			+	−						+					8
	ELEKTROLYTE K	Plasma	++		−	+			−	(+)											8
		Gewebe	−		++	−			+	(+)						+					8

Ø AUFGEHOBEN
− HERABGESETZT
(+) SCHWACH VORHANDEN
+ VORHANDEN
++ VERMEHRT (ERHÖHT)
NIERE NORMAL
NIERE GEKLAMMERT

ihren Zusammenhang mit der Blutdruckreaktion zu klären. Für die größte Zahl derselben sind keine genügenden quantitativen Unterlagen vorhanden, so daß wir uns darauf beschränken müssen, eine qualitative Charakterisierung ausgewählter Formen der experimentellen Hypertension nach weiteren Richtungen zu geben. Solche sind z. B.:

I. Histologische Veränderungen[346–415].

1. Große und kleine Arterien, (Kreislauf, Darm-, Pancreasgefäße), 2. Herz, 3. Endokrine Organe (besonders Nebenniere), 4. Bindegewebe, 5. Niere.

II. Funktionell biochemische Veränderungen[416–443].

1. Gehalt der Organe an Wirkstoffen, a) Niere, Renin, b) Nebennieren, Steroide, Amine, c) Serum, Hypertensinogen und andere Wirkstoffe. 2. Wassergehalt, Wasserumsatz, a) Diurese, Trinkmenge, b) Plasmavolumen, c) extracelluläres Flüssigkeitsvolumen, Ödeme.

III. Ausscheidung und Gehalt an Elektrolyten und anderen Stoffen.

1. Na-Aufnahme-Ausscheidung, 2. Gehalt von Niere und Arterien an Na, K, PO_4, Kreatin PO_4, Mucopolysacchariden usw.

Aus diesem Symptomenkreis seien nur einige Analogien und Unterschiede der verschiedenen Hypertonieformen besprochen.

Die renal bedingten Formen unterscheiden sich im allgemeinen von den endokrinen, daß die Veränderungen an großen und kleinen Arterien eher geringer sind, auch die Veränderungen an den Gefäßen des Herzens sind weniger ausgesprochen. Die Niere zeigt weniger deutliche Sklerose. Untersuchungen über Wasser/Salzhaushalt liegen nur zum Teil in genügendem Umfange vor, doch sind die Urinmengen, der NaCl Umsatz und die Vermehrung des Plasmavolumens bei der renalen Form andersartig gestört wie z. B. beim Desoxycorticosteronhochdruck. Ein besonderer Unterschied besteht darin, daß der Reningehalt der Niere bei Klammerung nicht abnimmt, nur in der normal gebliebenen bei Klammerung der anderen.

Auffallend ist, daß nach Floyer u. Ledingham[422] Veränderungen der Elektrolyte in den Geweben auftreten, die aber nicht einheitlich gerichtet erscheinen.

Die endokrinen Formen zeigen Unterschiede zu den renalen und unter sich. Bei Cortexon sind die Gefäßveränderungen der großen Gefäße, besonders der Darmgefäße am ausgesprochensten. Unilaterale Nephrektomie verstärkt die histologischen Veränderungen. Cortison zeigt diese besonders bei gleichzeitiger NaCl-Gabe weniger. Auch bei dem Hochdruck bei squeezed adrenals sind die Gefäßveränderungen wesentlich weniger ausgesprochen. Cortexon und Cortison zeigen bei Wasser/Salzbelastung verschiedene Effekte, Flüssigkeitsumsatz und Na-Bedürfnis ist nur bei Cortexon wesentlich erhöht. Bei den endokrinen Formen ist unter Cortexon und Aldosteron der Reningehalt der Niere herabgesetzt, unter Cortison und Cortisol normal. Die Zusammensetzung der Arterienwand und der Niere an Elektrolyten und anderen Bestandteilen ist gestört, doch noch nicht genau beurteilbar. Besonders ist dies

bei gleichzeitiger Reninbehandlung der Fall. In diesem Zusammenhang ist auch die eigenartige pseudoeklamptische Störung zu nennen, die bei vorhergehender Cortexonbehandlung, aber nicht bei anderen Corticoiden durch Renin ausgelöst wird. Sie gleicht in vielem der malignen Verlaufsform der Hypertension.

Über das Verhalten vieler Faktoren, z. B. des Parathormons in Kombination mit anderen sind keine genügenden Unterlagen vorhanden, Gefäßveränderungen durch Cortexon scheinen bei Fehlen von Parathormon nicht aufzutreten. Die Untersuchung dieser Faktoren ist außergewöhnlich wichtig.

Die vorliegenden Angaben zeigen aber bereits deutlich, daß neben gemeinsamen Zeichen bei den verschiedenartigen Typen der experimentellen Hypertension auch sichere qualitative Differenzen bestehen, die pathognomisch von Bedeutung sein müssen.

In allen diesen Fällen muß eine Frage als von besonderer Wichtigkeit berücksichtigt werden, nämlich wie weit die Veränderungen mit Höhe und Dauer der Blutdruckerhöhung parallel gehen bzw. von ihr bedingt sind. Es sind Anhaltspunkte vorhanden, daß gewisse Gefäßveränderungen bei experimenteller Hypertension vom Blutdruck abhängig sind, obwohl andere Befunde die relative Unabhängigkeit beider zeigen. Besonders bei der neurogenen Form treten praktisch keine Gefäßveränderungen auf (Hermann[367]). Aber auch bei Nierenarterienklammerung sind Gefäßveränderungen bei männlichen Ratten ausgesprochener als bei Weibchen, obgleich der Hochdruck sich bei den Männchen langsamer entwickelt und weniger hohe Werte erreicht. Nierenstörungen können auch ohne Druckerhöhung Arterienläsionen hervorrufen (Lehr[285,286], Wissler[410a,410b], Bein[348]). Diese Frage kann in den meisten Fällen experimentellen Hochdruckes noch nicht endgültig entschieden werden.

Zusammenhang des hypertonischen Zustandes mit allgemeinen pathophysiologischen Reaktionen

Diese Verhältnisse und der Zusammenhang der Hypertension mit mannigfachen anderer Organ- und Gewebsreaktionen führen zu einer wichtigen weiteren Frage.

In welchem Umfange ist die Gefäßerkrankung der Hypertension als Teilstörung in einem weiteren pathophysiologischen Geschehen oder als vollständig selbständige Erkrankung aufzufassen? Es sind aus der menschlichen Pathologie genügend Anhaltspunkte vorhanden, daß z. B. Infekte, allergische Situationen usw. Vorbedingungen der Hypertension sind, ohne daß die ursächliche Beziehung vollständig klar ist. Es liegen zahlreiche experimentelle Befunde über fibröse und entzündliche Veränderungen der großen und kleinen Gefäße vor, die durch allergische Reaktion oder durch Injektion bakteriellen Materials ausgelöst werden.

Im Zusammenhang mit der experimentellen Hypertension existieren kaum Unterlagen, doch sollten diese Reaktionen der Gefäße unbedingt genauere Berücksichtigung finden.

Bein, Loustalot und Desaulles haben in unserem Laboratorium eine andere Seite dieses Problems geprüft. Es schien wichtig zu untersuchen, ob bei experimenteller Hypertension neben der bindegewebigen Reaktion der Gefäße auch die allgemeine Reaktionsfähigkeit des Bindegewebes geändert ist, dies besonders deswegen, weil unter den endokrine Hypertension auslösenden Faktoren solche vorhanden sind, die bekanntermaßen allgemeine Bindegwebswirkungen besitzen. Diese Frage läßt sich mit Hilfe des von Meier u. Desaulles[379] ausgearbeiteten Granulomtests bearbeiten. Bein, Loustalot u. Desaulles[348] haben bei Tieren mit renaler Hypertension festgestellt, daß bei diesen zumindest in gewissen Phasen der hypertonischen Reaktion eine verstärkte Granulombildung des s.c.-Gewebes statthat. Ältere Versuche ergaben bereits, daß die granulomfördernde Reaktion des Desoxycorticosterons durch Kochsalzgabe verstärkt wird. Weiterhin geht aus den Befunden von Bein[348] hervor, daß Gefäßläsionen und Reaktion des s. c.-Bindegewebes nicht in jeder Hinsicht parallel sind. Trotzdem stehen alle diese Reaktionen in irgendeiner Weise zur gestörten Niere in Beziehung. Diese Befunde deuten alle in die Richtung, daß die histologische Reaktion der Gefäße in gewissen Fällen nur einen Teil einer sich auf größere Bezirke des Bindegewebes erstreckenden Änderung darstellt. Der renale ätiologische Faktor, der die „Bindegewebsreaktion" bedingt, ist vorläufig unbekannt.

Diese Ergebnisse sprechen somit dafür, daß manche Veränderungen des hypertonischen Geschehens Ausdruck eines allgemeineren pathologischen Vorganges sind, der möglicherweise für den Zustand charakteristisch oder sogar mitverantwortlich ist.

Wenn wir versuchen wollen, für den Einzelfall der Hypertensionsentstehung eine geschlossene Kausalkette von Ursache und Folge in Berücksichtigung aller Komponenten aufzustellen, so ist es aus dem Dargelegten verständlich, daß dies in vollem Umfange nicht möglich ist.

Trotzdem können wir aus der Gesamtheit der vorliegenden Befunde schließen, daß für den chronischen hypertonischen Zustand meist mehrere Faktoren maßgebend sind, die zwar durch den auslösenden Vorgang bedingt, aber zum Teil von ihm unabhängig sind. Wollen wir über den Wirkungsmechanismus dieser letzteren ein Urteil abgeben, so scheint es am ehesten möglich, daß diese Faktoren chemischen Charakters eine Änderung der physikalisch-chemischen Struktur und vielleicht der Flüssigkeitszusammensetzung und Elektrolyte gewisser Gewebe, besonders des Bindegewebes bedingen. Eine solche kann von vielen Faktoren beeinflußt und bis zu einem gewissen Grade verselbständigt das pathologische Geschehen darstellen. Sie bewirkt auch die

veränderte Reaktionsfähigkeit der Gefäße usw. Es wäre durchaus möglich, über diesen Vorgang einige hypothetische Ansichten zu geben, deswegen, weil er als vielen Formen der Hypertension gemeinsam ganz besondere Qualitäten besitzen muß, doch möchten wir darauf vorläufig verzichten.

Beziehung therapeutischer Wirkungen zu den pathologischen Vorgängen der Hypertension

Als letztes Problem ist der Zusammenhang der pathophysiologischen Vorgänge der experimentellen Hypertension mit der Beurteilung therapeutischer Wirkungen zu erörtern.

Von grundsätzlichen Erwägungen aus sind diese wiederum dahin zu beurteilen, inwieweit kommen sie durch die alleinige Wirkung auf den Blutdruck, unabhängig von der Qualität dieser Wirkung oder durch einen Effekt auf bestimmte, die Hypertension bedingende Faktoren oder mit dem gesamten Vorgang vergesellschaftete Vorgänge zustande, die sich in therapeutischer Hinsicht vielleicht erst sekundär auf die hypertonische Reaktion auswirken würden. Die Schwierigkeit der Beurteilung der ausschließlichen Bedeutung der Blutdruckwirkung liegt darin, daß nur Wirkungen bei Blutdrucksenkung von gleichem Ausmaß und gleicher Dauer verglichen werden können, und alle anderen Wirkungskomponenten ausgeschlossen werden müssen.

Experimentell ist diese Frage bisher wohl nur in einzelnen Fällen einigermaßen untersucht, z. B. bei den Ganglienblockern, aber auch bei diesen bleibt noch offen, ob ihre Wirkung tatsächlich ausschließlich auf der durch Ganglienblockierung hervorgerufenen Blutdrucksenkung beruht.

Bei anderen antihypertensiven Stoffen sind Befunde vorliegend, die zeigen, daß sich ihre Wirkung nicht in der hypotensiven Wirkung erschöpft. Die Kausalitätszusammenhänge sind aber auch in diesen Fällen noch unklar. Deshalb scheint es im Augenblick nur möglich, auf Grund des Vergleiches der qualitativen Wirkungskomponenten von ausgewählten hypotensiven Stoffen zu zeigen, in welche Richtung derartige Überlegungen, um zu einem Urteil zu kommen, zu gehen haben.

Wir haben für eine solche Charakterisierung zwei Stoffe gewählt, die therapeutisch interessant sind, von denen wir außerdem eine größere Reihe von experimentellen Daten besitzen, Reserpin und Apresolin/Nepresol[508,509,511,512,540,541].

Hinsichtlich des formalen Charakters der blutdrucksenkenden Wirkung besitzen sie große Ähnlichkeiten untereinander, unterscheiden sich hierin aber von anderen hypotensiven Stoffen. Diese formale Ähnlichkeit gibt der Beurteilung der qualitativen Unterschiede ein

Tabelle 4. *Spektrum der pharmakologischen Wirkungen von Reserpin und Apresolin*

	Reserpin	Apresolin
Centrales und autonomes Nervensystem	Hemmung der Zentren des Sympathicus und der zentripetalen Kreislaufreflexe Liberation von biog. Aminen aus CNS und autonomen Strukturen	
Kreislauf Normotones Tier	Blutdrucksenkung Steigerung der peripheren Durchblutung Liberierung biogener Amine aus dem Herzmuskel Verstärkung der Adrenalin, Nor-Adrenalin Reaktion	Blutdrucksenkung Minutenvolumenvermehrung periphere Durchblutungssteigerung Abschwächung der Adrenalin Nor-Adrenalin-Reaktion
isolierte Organe Coronargefäße	Coronarerweiterung Antagonismus: Pitressin, $BaCl_2$, Adrenalin	Coronarerweiterung Antagonismus: Adrenalin Pitressin, $BaCl_2$
periphere Gefäße	Erweiterung Antagonismus: Hypertensin, Pitressin, Serotonin, $BaCl_2$	Erweiterung Antagonismus: Hypertensin, Pitressin, Serotonin, Histamin, $BaCl_2$
Hypertones Tier akute Wirkung	Antagonismus: Hypertensin	Antagonismus: Renin, Hypertensin, Adrenalin Nor-Adrenalin
chronische Wirkung	Blutdrucksenkung bei Nierendrosselung, squeezed adrenals, Cortexon, post-Cortexon	Blutdrucksenkung bei Nierendrosselung, squeezed adrenals, MAD, Cortexon, post-Cortexon
Nierenloses Tier	Antagonismus: Hypertensin	Antagonismus: Pitressin, Hypertensin, Adrenalin
Endokrine Drüsen	Hemmung der Produktion von FSH	
Pseudoeklamptische Reaktion	Hemmung	Hemmung
Salz/Wasserstoff-Wechsel	„Pitressin-artige" Wirkung bei H_2O nicht bei NaCl Belastung Herabsetzung der Flüssigkeitsmenge bei Gabe von NaCl-Lösung	„Pitressin-artige" Wirkung bei H_2O Belastung nicht bei NaCl Belastung
Bindegewebe	Leichte Hemmung der Granulomreaktion (Gewichtshemmung)	Deutliche Hemmung des Fremdkörpergranuloms

Tabelle 4 (Fortsetzung)

	Reserpin	Apresolin
Fermente		Hemmung der Amin- und Diaminoxydase, Histidin- und Tyrosindecarboxylase
Reaktion mit spezifischen Stoffen		Komplexbildung mit Metallen Steigerung der durch Co katalysierten Oxydation des Adrenalins (Reaktion mit Hypertensin) Inaktivierung durch Serumbestandteile

besonderes Interesse. Die in der Tab. 4 zusammengestellten pharmakologischen Daten zeigen eindeutig, daß die Wirkung hinsichtlich Mechanismus und Kreislaufwirkung verschieden ist trotz des formal ähnlichen Charakters des blutdrucksenkenden Effektes. Das gleiche gilt für weitere Komponenten des Auslösungsmechanismus der Blutdrucksenkung, bei dem für Reserpin besonders der zentrale Angriffspunkt im Vordergrund steht, bei Apresolin der periphere. Neuerdings sind aber für Reserpin weitere Befunde hinsichtlich peripherer Wirkung hinzugekommen, so die von Carlsson[513] entdeckte Liberation von biogenen Aminen aus peripheren autonomen Substraten. Es muß somit erneut eine Klärung der Bedeutung dieser Wirkung hinsichtlich des therapeutischen Effektes erfolgen.

Die übrigen pharmakologischen Wirkungen haben wir absichtlich nach Gruppen zusammengestellt, die den Hypertonie auslösenden Faktoren entsprechen. Es ist aus der Tabelle 4 deshalb ohne weiteres ersichtlich, daß in diesem Wirkungsspektrum beide Stoffe sich unterscheiden und daß in ihnen Wirkungskomponenten vorliegen, die sowohl für den hypotensiven chronischen Effekt als auch andere therapeutische Effekte bei der Hypertension in Betracht gezogen werden müssen. Es sei besonders auf die endokrinen Effekte des Reserpins, die Wirkung des Apresolins auf die Bindegewebsreaktion und Fermente usw. hingewiesen, die mit dem Umsatz der biogenen Amine und des Hypertensins in Zusammenhang stehen. Auf Grund der experimentellen Befunde läßt sich wohl noch nicht mit Sicherheit die Bedeutung dieser Komponenten bei den therapeutischen Wirkungen belegen, doch sprechen verschiedene Befunde dafür, daß sie für die qualitative Differenz des Effektes der beiden Stoffgruppen bei verschiedenen experimentellen Hypertonieformen von Bedeutung sein werden. In die gleiche Richtung weisen sich in letzter Zeit mehrende Befunde, daß Stoffe, z. B. Steroidderivate, bei denen keine blutdrucksenkende Wirkung am normotonen Tier nachgewiesen werden kann, trotzdem therapeutisch einen hypotensiven Effekt bei der experimentellen Hypertension haben. Es liegt im Bereich

des Möglichen, daß diese Stoffe nicht durch irgendeine Art direkter hypotensiver Wirkung, sondern durch Beeinflussung eines der Hypertension auslösenden Faktoren ihren Effekt ausüben. Eine solche Entwicklung war auf Grund der erarbeiteten Konzeption der Ätiologie der experimentellen Hypertension zu erwarten.

Die Erforschung der verschiedenen Probleme der experimentellen Hypertension zeigt somit vor allem, daß zwischen der allgemeinen Charakterisierung des pathophysiologischen Zustandes und der sich ergebenden Beurteilung therapeutischer Effekte Zusammenhänge erkennbar sind, die keinen inneren Widerspruch in sich tragen.

Das wesentliche Ergebnis dieser Arbeiten ist, daß sie neues Wissen über einige grundsätzlich wichtige funktionelle und biochemische Faktoren und Vorgänge der Hypertension entwickelt haben, das Nichtbekannte umrissen und genauer definiert und damit einer weiteren Analyse zugänglich gemacht haben. Beides scheint bleibender Gewinn und dem tiefen Sinne biologischer Forschung entsprechend.

Das Literaturverzeichnis befindet sich am Schluß der folgenden Arbeit.

F. Gross (Basel): Experimentelle Methoden zur Beurteilung blutdrucksenkender Pharmaka

Mit 5 Textabbildungen

Es ist nur in Ausnahmefällen möglich, experimentell pathologische Veränderungen zu erzeugen, die mit den spontan beim Menschen auftretenden vergleichbar sind. Zwar lassen sich einzelne führende Symptome menschlicher Erkrankungen am Tier hervorrufen, wie z. B. ein erhöhter Blutdruck, Gefäßveränderungen, Ulcera der Magenschleimhaut, entzündliche Gelenkreaktionen usw., jedoch stimmen weder die auslösenden Faktoren noch die Pathogenese mit den beim Menschen vorliegenden Verhältnissen vollständig überein. Die Fähigkeit bestimmter Gewebe, Organe oder Organsysteme, auf verschiedenartige Noxen zu reagieren, ist beschränkt, und die erkennbaren Symptome und erfaßbaren Veränderungen sind häufig ähnlich oder sogar übereinstimmend, ohne daß die dazu führenden Bedingungen gleich oder vergleichbar sind. Dies trifft auch für die experimentelle Hypertension und für die Hochdruckkrankheit des Menschen zu, die durch das führende Symptom des erhöhten Blutdruckes charakterisiert sind, ohne eine nosologische oder pathogenetische Einheit darzustellen. Beim Tier läßt sich eine chronische Blutdrucksteigerung auf verschiedene Weise hervorrufen, jedoch tritt nur selten eine spontane Hypertension auf, wobei offenbar genetische Faktoren eine maßgebende Rolle spielen[343,345].

Es ist wiederholt versucht worden, bestimmte Arten der experimentellen Hypertension in Parallele zu einzelnen Formen der menschlichen Erkrankung zu setzen. So ist der nach Überdosierung von Cortexon und Kochsalz an der Ratte bestehende post-Cortexonhochdruck (metacorticoid hypertension) mit der essentiellen Hypertonie des Menschen verglichen worden (Green[266], Friedman[253]), und die nach Drosselung der Nierenarterien am Hund eintretende Blutdrucksteigerung wurde ebenfalls mit dem essentiellen Hochdruck in Beziehung gesetzt (Wakerlin[226]). Die für diese Auffassung vorgebrachten Argumente vermögen jedoch nicht zu überzeugen, und die vorliegenden Befunde lassen keine sicheren Angaben zu, ob die durch verschiedene experimentelle Maßnahmen hervorgerufene Blutdrucksteigerung direkt mit einer der menschlichen Erkrankungen vergleichbar ist, bei denen Hochdruck als führendes Symptom auftritt.

Bei der Suche nach Kriterien für die Beurteilung drucksenkender Pharmaka im Hinblick auf ihre therapeutische Anwendbarkeit wird nach Möglichkeit von den mit einfachen Methoden erreichbaren Resultaten auszugehen und zu versuchen sein, eine Vorauswahl der Verbindungen zu treffen, die dann mit Hilfe komplizierterer Versuchsanordnungen zu prüfen sind. Die primäre Drucksenkung am normotonen und am hypertonen Tier, die Beeinflussung verschieden ausgelöster Drucksteigerungen und die Analyse des Wirkungstypus im akuten Versuch ermöglichen es bereits, einen neuen Stoff weitgehend zu charakterisieren, besonders bei einem Vergleich mit bekannten Substanzen, die schon therapeutische Verwendung gefunden haben. Dieses Verfahren der Analogieprüfung ist jedoch nicht für Verbindungen anwendbar, die keine primäre Wirkung auf den Blutdruck besitzen oder deren drucksenkender Effekt am normotonen Tier nicht in Erscheinung tritt. In diesen Fällen ist die wiederholte Anwendung am normotonen oder chronisch hypertonen Tier erforderlich, wobei oft erst nach einigen Tagen eine Druckabnahme nachweisbar ist, und zwar im allgemeinen um so deutlicher, je höher der Ausgangsdruck ist.

Auf Grund dieser Überlegungen ergibt sich folgendes Vorgehen für die Prüfung blutdrucksenkender Pharmaka:

1. Blutdrucksenkung am normotonen Tier und Charakterisierung der Kreislaufwirkung,

2. Beeinflussung verschieden ausgelöster akuter Blutdrucksteigerungen und Analyse des Wirkungsmechanismus,

3. Akute Blutdrucksenkung am experimentell hypertonischen Tier,

4. Beeinflussung verschiedener Formen von chronisch experimenteller Hypertension.

Die mit Hilfe dieser Versuchsanordnungen erhobenen Befunde geben Auskunft in verschiedener Richtung und führen zu einem Gesamtbild,

das eine bessere und zuverlässigere Grundlage für die Beurteilung der möglichen therapeutischen Wirkung darstellt als die Beobachtung des Blutdruckes am normotonen Tier. Es ist allerdings auch auf Grund dieser Untersuchungen nicht möglich, definitive Angaben über die blutdrucksenkenden Eigenschaften einer Verbindung am Menschen zu machen[523].

I. Untersuchungen am normotonen Tier

Die Prüfung auf blutdrucksenkende Wirkung eines Stoffes erfolgt im allgemeinen am narkotisierten Tier (Kaninchen, Katze, Hund), bei dem die Ausschaltung oder Dämpfung nervöser Regulationen durch die Narkose wesentliche Abweichungen vom „normalen" Verhalten verursacht. Untersuchungen am nicht narkotisierten Tier sind entweder mit Hilfe der Carotisschlinge nach VAN LEERSUM möglich (Kaninchen, Hund) oder durch direkte Punktion einer Arterie, meist der art. femoralis (Hund). Neuerdings wird in vermehrtem Maße die fortlaufende blutige Druckmessung am nicht narkotisierten trainierten Hund vorgenommen. Trotz der Nachteile, mit denen die Anwendung verschiedener Narkotica (Barbiturate, Chloralose, Äther) verbunden ist, bietet für die routinemäßige Untersuchung das Arbeiten am narkotisierten Tier so große Vorteile, daß die Prüfung einer Substanz auf blutdrucksenkende Wirkung am nicht narkotisierten Tier im allgemeinen erst dann in Betracht zu ziehen sein wird, wenn die in Narkose erhobenen Befunde dies als zweckmäßig erscheinen lassen. Die meisten der heute verwendeten blutdrucksenkenden Pharmaka sind auf Grund ihrer akut drucksenkenden Wirkung am narkotisierten Tier aufgefunden worden. Ausnahmen sind unter anderem Rhodanderivate und Heparin, die am normotonen Tier keine charakteristische Drucksenkung hervorrufen.

Im Gegensatz zur wesentlich selteneren Drucksteigerung stellt die Blutdrucksenkung eine verhältnismäßig unspezifische Reaktion dar, die sich mit einer Vielzahl von Substanzen hervorrufen läßt, die in ihrer chemischen Zusammensetzung und ihrem pharmakologischen Verhalten stark voneinander abweichen. Für die Auswahl im Hinblick auf eine Verwendung zur Behandlung des Hochdruckes stellt die quantitative und qualitative Charakterisierung der Blutdrucksenkung nach Eintritt, Intensität und Dauer sowie die Dosis-Wirkungsbeziehung ein geeignetes Hilfsmittel für eine Abgrenzung spezifisch wirkender Substanzen dar. Die typischen Extreme des Verlaufes der Blutdruckkurve sind der steile, tiefe, kurzdauernde Abfall, wie er unter Acetylcholin oder an bestimmten Tierarten unter Histamin zu beobachten ist und die langsam einsetzende, in ihrer Intensität meist begrenzte, lang anhaltende Senkung, wie sie bei Hydrazinophthalazinen und besonders bei Reserpin auftritt. Daneben gibt es Mischformen, von denen vor allem

der steile und tiefe Abfall mit stark verzögerter Rückkehr auf den Ausgangswert zu nennen ist, wie er sich bei bestimmten ganglienblockierenden Stoffen, Sympathicolytica oder Veratrumalkaloiden findet. Die Abhängigkeit der drucksenkenden Wirkung von der Dosis äußert sich vorwiegend in zwei Richtungen. Bei den kurz wirkenden Verbindungen nimmt in einem bestimmten Bereich mit steigenden Dosen die Intensität der Drucksenkung zu, wobei allerdings die Rückkehr auf den Ausgangswert bei tieferem Abfall ebenfalls verlangsamt ist. Bei den lang wirkenden Substanzen ist dagegen die Dauer der Drucksenkung der wesentliche dosenabhängige Faktor, während das Ausmaß auch bei Steigerung der Dosis einen bestimmten Wert nicht überschreitet (Meier et al.[539/541]).

Besonders hervorzuheben ist der Verlauf der Blutdruckkurven unter der Einwirkung von Hydrazinophthalazinen[511] und von Reserpin[512] oder analog wirkenden Rauwolfia-Alkaloiden, wie Rescinnamin und Deserpidin. Der Druck fällt bei beiden Substanzgruppen allmählich ab, bei den Rauwolfia-Alkaloiden erst nach einer gewissen Latenzzeit. Die Intensität der Drucksenkung zeigt zwar in einem gewissen Bereich eine Abhängigkeit von der Dosis, ohne jedoch ein bestimmtes Maß zu überschreiten und ähnlich tiefe Werte zu erreichen, wie sie nach Anwendung hoher Dosen von ganglienblockierenden Stoffen, Sympathicolytica oder von Protoveratin erreicht werden.

Das Ausmaß der Druckabnahme hängt von der Höhe des Ausgangsdruckes ab und ist im allgemeinen um so stärker, je höher dessen Niveau ist. Bei erhöhtem Ausgangsdruck ist die Empfindlichkeit gegenüber hypotensiv wirkenden Pharmaka meist gesteigert und um einen gleichen Abfall zu erzielen, genügen im allgemeinen geringere Dosen als bei normalem oder erniedrigtem Druck. Diesem Verhalten ist auch bei der Anwendung blutdrucksenkender Pharmaka beim Menschen Rechnung zu tragen, da Dosen, die beim Normotoniker nur eine geringe oder keine Druckabnahme hervorrufen, beim Hypertoniker erheblichen Abfall bis zum Kollaps auslösen können.

Fast alle der heute für die Behandlung der Hypertension verwendeten blutdrucksenkenden Substanzen setzen am normotonen Tier den Blutdruck herab. Versucht man auf Grund des Verlaufes der Blutdruckkurve am Kaninchen, an der Katze oder am Hund Angaben über die Brauchbarkeit eines Pharmakons für die Behandlung der menschlichen Hypertension zu machen, so ergibt sich, daß diejenigen Verbindungen, die eine lang anhaltende Drucksenkung herbeiführen, größere Aussichten für eine therapeutische Verwendung besitzen als die kurz wirkenden. Außerdem sind die Substanzen, die eine allmählich einsetzende und begrenzte Drucksenkung hervorrufen, einfacher in ihrer Handhabung als Verbindungen mit steilem und tiefem Abfall, und die Gefahr eines

kollapsartigen Druckabfalles ist wesentlich geringer als z. B. bei Ganglienblockern oder bestimmten Sympathicolytica. Ein derartiger Verlauf der Blutdruckkurve stellt jedoch keine Voraussetzung für die therapeutische Brauchbarkeit einer Substanz dar, und verschiedene Verbindungen, die zu allmählich einsetzender, langdauernder Drucksenkung führen, haben noch keine praktische Anwendung gefunden (z. B. Polypeptide). Andererseits gehören bestimmte Ganglienblocker oder Veratrumalkaloide nicht zu diesem Typus und sind dennoch von therapeutischer Bedeutung. Trotz dieser Ausnahmen gibt die Charakterisierung der Blutdrucksenkung nach den angegebenen Kriterien brauchbare Hinweise für die therapeutischen Möglichkeiten.

Für Substanzen oder bestimmte Maßnahmen, die keine spezifische akute Drucksenkung hervorrufen, gibt der Verlauf der Blutdruckkurve keine Hinweise auf die Beeinflussung des normalen oder pathologisch erhöhten Blutdruckes, sondern es ist notwendig, andere Versuchsanordnungen herauszuziehen, mit deren Hilfe es gelingt, einen Effekt derartiger Substanzen auf den Blutdruck nachzuweisen (Meier u. Mitarb.[539], Gross[523]).

II. Beeinflussung akuter Blutdrucksteigerungen

Am intakten oder in bestimmter Weise vorbehandelten Tier auslösbare akute Drucksteigerungen lassen sich ätiologisch zu Gruppen zusammenfassen, wobei diese Einteilung allerdings in verschiedener Hinsicht willkürlich ist und Überschneidungen nicht vermeidet (Tab. 1). Die hierfür in Betracht kommenden Versuchsanordnungen sind nicht spezifisch für die Charakterisierung blutdrucksenkender Pharmaka, sondern werden allgemein für die pharmakodynamische Analyse kreislaufaktiver Stoffe verwendet.

Die zu untersuchende Substanz kann entweder prophylaktisch vor Auslösung der akuten Drucksteigerung, gleichzeitig mit dieser gegeben oder erst auf der Höhe des Blutdruckanstieges angewendet werden. Prophylaktische oder curative Gabe einer Verbindung oder Anwendung bestimmter Maßnahmen führt nicht immer zum gleichen Effekt. Dies trifft besonders für Versuche über die Beeinflussung chronischer experimenteller Hypertension zu, bei der es meist leichter ist, die Entwicklung eines Hochdruckes zu verhindern als eine vorhandene Hypertension, die bereits zu morphologischen Veränderungen geführt hat, zu normalisieren.

Um die mit den einzelnen Methoden erhobenen Befunde miteinander vergleichen zu können, ist die Einhaltung konstanter Versuchsbedingungen von wesentlicher Bedeutung. Nicht nur die Intensität, sondern auch die Richtung der Wirkung kann unter bestimmten Voraussetzungen eine andere sein, und voneinander abweichende Resultate

können ebensogut auf Änderungen der Versuchsanordnung zurückzuführen sein wie auf ein verschiedenartiges Wirkungsbild.

1. Nervös reflektorische Drucksteigerungen. Am einfachsten ist von den drei in Tab. 1 angegebenen Versuchsanordnungen der Carotisentlastungsreflex auszulösen, bei dem jedoch die Höhe des Ausgangsdruckes zu beachten ist, die für das Ausmaß der reflektorischen Drucksteigerung mitbestimmend ist (Miescher[542]). Die centripetale Nervenreizung erfolgt am einfachsten durch elektrische Reizung des zentralen

Tabelle 1. *Beeinflussung akuter Blutdrucksteigerungen durch verschiedene drucksenkende Pharmaka*

Auslösungsmechanismen:	Sympathicolytica (Phentolamin)	Hydrazinophthalazine	Ganglienblocker	Chlorpromazin	Reserpin	Protoveratrin
1. nervös reflektorische						
Zentripetaler Nervenreiz (Hund, Katze)	hemmen	hemmen schwach	hemmen	hemmt	hemmt	(verstärkt)
Carotis Entlastungsref. (Hund, Katze)	hemmen	hemmen schwach	hemmen	hemmt	hemmt	hemmt
O_2-Mangel (Hund, Katze)	hemmen	hemmen schwach	hemmen	hemmt	hemmt	verstärkt
2. humorale						
Adrenalin (Hund, Katze, Ratte)	kehren um	hemmen	verstärken	kehrt um	verstärkt	verstärkt
nor-Adrenalin (Hund, Katze, Ratte)	hemmen	hemmen schwach	verstärken	hemmt	verstärkt	verstärkt
Vasopressin (Katze, Ratte)	keine Wirkung	hemmen schwach (Ratte)	verstärken		verstärkt	keine Wirkung
3. renale						
Drosselung der Nierendurchblutung (Katze)	keine Wirkung	hemmen	hemmen	hemmt	(hemmt schwach)	hemmt
Renin (nierenlose Ratte)	hemmen	hemmen	hemmen	hemmt		
Hypertensin (nierenlose Ratte)	hemmen	hemmen	hemmen	hemmt	keine Wirkung	hemmt

Stumpfes des durchschnittenen n. vagus oder n. ischiadicus[511]. Zur Auslösung des Sauerstoffmangels verwendeten wir meist ein Gemisch mit 7% O_2, das während 2—3 min gegeben wurde. Auf diese Weise ist in den meisten Fällen ein deutlicher Blutdruckanstieg zu erzielen[512].

Die verschiedenen ausgewählten Beispiele reflektorisch bedingter Drucksteigerungen sind dadurch charakterisiert, daß sich zwar auslösender Reiz und Erregungsleitung unterscheiden, daß aber das periphere sympathische System die für den Anstieg des Blutdruckes verantwortliche Endstufe darstellt. Substanzen, die die peripheren sympathischen Receptoren blockieren, wie die peripher angreifenden Sympathicolytica, werden daher unabhängig vom Ort der Auslösung den Druckanstieg hemmen. Weiterhin wirken Verbindungen, die an anderen Stellen die Übertragung der Erregung auf dem von ihr durchlaufenen Weg beeinträchtigen. Dies gilt für die ganglienblockierenden Substanzen, aber auch für Reserpin und analog wirkende Rauwolfia-Alkaloide, die an zentralen sympathischen Substraten angreifen und die sympathische Endstufe oder die dieser vorgeschalteten peripheren Ganglien nur sekundär beeinflussen, indem sie eine Erschöpfung an Noradrenalin hervorrufen und auf diese Weise die Erregungsübertragung hemmen (Carlsson[513]).

2. Durch körpereigene Wirkstoffe ausgelöste Drucksteigerungen. Injektion körpereigener Wirkstoffe mit pressorischen Eigenschaften führt zu einer Erregung spezifischer peripherer Receptoren. Die Blutdrucksteigerung durch Adrenalin und Noradrenalin (2 γ/kg i.v.) wird durch peripher wirkende Sympathicolytica in typischer Weise umgekehrt bzw. abgeschwächt, durch Ganglienblocker oder Reserpin dagegen verstärkt. Beim chronisch hypertonischen Tier (renale Formen, Cortexon-Überdosierung) kann der akute blutdrucksteigernde Effekt verstärkt sein, ohne daß dadurch seine Beeinflußbarkeit durch Sympathicolytica beeinträchtigt wird.

Im Gegensatz zu den adrenergischen Wirkstoffen wird der pressorische Effekt von Vasopressin an der Katze durch keine der untersuchten Substanzen vermindert, dagegen durch Ganglienblocker und Reserpin in ähnlicher Weise verstärkt. An der Ratte schwächt Apresolin die Vasopressin-Drucksteigerung leicht ab. Es ist somit anzunehmen, daß Receptoren vorhanden sind, die durch die verschiedenen drucksenkenden Pharmaka nicht ausgeschaltet werden, auch nicht durch die Hydrazinophthalazine, die weniger spezifisch auf periphere, für die Vasoconstriction verantwortliche Receptoren wirken als die Sympathicolytica und die Reaktionsfähigkeit der Gefäßwand auf vasoconstrictorische Reize allgemein herabsetzen[511]. Bei Ratten mit Cortexonhochdruck ist die primäre Drucksteigerung nach Injektion von Vasopressin in ähnlicher Weise verstärkt wie diejenige nach adrenergischen Wirkstoffen. Dagegen wurde von Friedman eine lang dauernde sekundäre Drucksenkung nach Gabe von Vasopressin bei Tieren mit Cortexonhypertension beobachtet, die bei geeigneter Dosierung zur anhaltenden Drucksenkung führen soll (Tab. 3).

3. Pressorsubstanzen renalen Ursprungs. Durch Entfernung der Nieren gelingt es, bei der Ratte, beim Kaninchen und beim Hund die Empfindlichkeit gegenüber injiziertem Renin, frisch hergestelltem Nierenextrakt oder Hypertensin zu steigern. Dabei ist nicht zu entscheiden, ob Hypertensin als Reaktionsprodukt von Renin mit Hypertensinogen zu den Pressorsubstanzen renalen Ursprungs zu rechnen ist, da der Ort der Hypertensinbildung nicht feststeht. Am besten eignet sich für diese Versuche die Ratte, bei der nach Renininjektion sowohl die Intensität der Blutdrucksteigerung verstärkt als auch besonders deren Dauer verlängert ist. Intravenöse Injektion von Renin oder Nierenextrakt führt zu einer akut einsetzenden, lang anhaltenden Blutdruckzunahme, die sich für die Testierung von Pharmaka auf ihre antagonistische Wirkung gegenüber Renin eignet. Ein lang dauernder Druckanstieg läßt sich auch an der nierenlosen Ratte durch Infusion von Hypertensin erzielen, so daß es möglich ist, drucksenkende Substanzen vergleichend gegenüber der durch Renin und durch Hypertensin ausgelösten anhaltenden Blutdrucksteigerung zu untersuchen. Bei diesen Versuchen sind die besonderen Verhältnisse zu berücksichtigen, die sich durch Ausschaltung der Nieren ergeben, wobei Befunde auftreten, die von den beim Normaltier erhobenen abweichen. So läßt sich z. B. die hemmende Wirkung der Ganglienblocker gegenüber Renin und Hypertensin nur am nierenlosen, aber nicht am intakten Tier nachweisen.

Von den therapeutisch verwendeten drucksenkenden Pharmaka besitzen die Hydrazinophthalazine die deutlichste Wirkung gegenüber der durch Renin oder Hypertensin ausgelösten Drucksteigerung, während Reserpin in beiden Fällen ohne sicheren Effekt ist. Sympathicolytica, Ganglienblocker und Protoveratrin führen entsprechend der Dauer ihrer Wirkung zu kürzer oder länger anhaltender Blutdrucksenkung, jedoch nicht zu Normalisierung.

Beim Abklemmen der Aorta oberhalb der Nierenarterien dürften für den kurz nach der Drosselung häufig beobachteten steilen Druckanstieg im wesentlichen hämodynamische Ursachen verantwortlich sein, während die im Anschluß daran einsetzende, langsame Zunahme des Blutdruckes auf eine Freisetzung pressorischer Substanzen aus der Niere zurückgeführt wird[151]. Es ist jedoch nicht sicher bewiesen, daß akute Drosselung der Blutzufuhr zu den Nieren von einer vermehrten Abgabe pressorischer Substanzen gefolgt ist und daß der Druckanstieg bei dieser Versuchsanordnung auf einer Ausschüttung von pressorischen Nierenwirkstoffen beruht. Die Beeinflussung dieser Drucksteigerung geht im wesentlichen der Wirkung auf den akuten Reninhochdruck an der Ratte parallel. In Anbetracht der weitgehend übereinstimmenden Befunde bevorzugen wir die wesentlich einfachere Methode der durch Renin ausgelösten Blutdrucksteigerung an der nierenlosen Ratte.

Das Bild, das sich aus diesen Versuchen ergibt, ist vielgestaltig und zeigt, wie mannigfaltig die Wirkungen sind, die durch die bekannten drucksenkenden Substanzen hervorgerufen werden. Die verschiedenartigen Einflüsse, die die untersuchten Pharmaka in den einzelnen Versuchsanordnungen ausüben, tragen nicht nur zu ihrer pharmakologischen Charakterisierung bei, sondern erlauben auch gewisse Schlußfolgerungen im Hinblick auf ihre voraussichtliche Wirkung am Menschen, vor allem, wenn es sich dabei um Analogien zu bereits verwendeten Substanzgruppen handelt. Außerdem ist es möglich, auf Grund dieser Befunde Aussagen über die Anwendbarkeit der geprüften Stoffe bei denjenigen Formen der menschlichen Hypertension zu machen, bei denen einer der zur Auslösung der Drucksteigerung angewendeten körpereigenen Stoffe eine entscheidende Rolle für die Entstehung oder Aufrechterhaltung des Hochdruckes spielt. Dies ist z. B. beim anfallsweisen oder andauernden Druckanstieg bei Vorliegen eines Phäochromocytoms der Fall, für dessen Verhinderung oder Unterdrückung sich Sympathicolytica bewährt haben. Für die anderen humoral oder nervös reflektorisch ausgelösten akuten Drucksteigerungen sind dagegen keine sicheren Äquivalente in der menschlichen Pathologie bekannt, insbesondere ist nicht anzugeben, welche Rolle die renalen Pressorsubstanzen dabei spielen.

III. Akute Blutdrucksenkung am chronisch hypertonischen Tier

Entsprechend der bei den meisten drucksenkenden Substanzen zu beobachtenden Abhängigkeit der Intensität des Druckabfalls von der Höhe des Ausgangsdruckes, nimmt nach Gabe gleicher Dosen der Druck am hypertonen Tier im allgemeinen stärker ab als am normotonen Tier, ohne daß damit wesentliche qualitative Unterschiede der Reaktion einhergehen. Prüfungen am experimentell hypertonischen Tier sind nur verhältnismäßig selten vorgenommen worden, und zwar sowohl bei neurogener als auch bei renaler oder durch Cortexon-Überdosierung hervorgerufener chronischer Blutdrucksteigerung. Dabei werden entweder einzelne Blutdruckwerte am nicht narkotisierten Tier bestimmt oder der Druck fortlaufend in Narkose verfolgt, wobei zu berücksichtigen ist, daß die Narkose je nach der Tierart, dem Typus der Hypertension und dem verwendeten Narkoticum bereits zu einer Druckminderung führen kann. Der drucksenkende Einfluß der Narkose tritt bei Tieren mit Hypertension wesentlich stärker in Erscheinung als bei normotonen Tieren. Bei neurogener Hypertension am Hund ruft Narkose mit Barbitursäurederivaten einen stärkeren Blutdruckabfall hervor als bei renalem Hochdruck, jedoch nicht bis auf normale Werte[76]. In Urethannarkose ist an der Ratte mit Cortexon- oder mit renalem Hochdruck der Blutdruck häufig normal und immer erheblich niedriger als in leichter Äthernarkose, wobei

auch der zeitliche Abstand zwischen Gabe des Narkoticums und Druckmessung eine Rolle für die Druckhöhe spielt (Abb. 5).

Besonders der Post Cortexon (Metacorticoid) Hochdruck der Ratte ist für derartige Versuche herangezogen worden (Green[266], Sturtevant[555]). Dabei ließen sich akute Blutdrucksenkungen mit Substanzen (Östrogenen, Diuretika) erzielen, die am normotonen Tier den Blutdruck nicht beeinflussen (Sturtevant[316,315]). Schroeder[551] hat einzelne schwefelhaltige Verbindungen beschrieben, die nur bei der renal hypertonen Ratte eine drucksenkende Wirkung besitzen sollen, ohne am normotonen Tier den Blutdruck herabzusetzen, während mit anderen auch der normale Blutdruck abnimmt[550]. Der akute drucksenkende Einfluß von Heparin soll sich besonders gut am hypertonischen Tier nachweisen lassen, ebenso der hypotensive Effekt von Pitressin[258]. Die wesentliche Bedeutung dieser Versuchsanordnung liegt somit im Nachweis einer akuten drucksenkenden Wirkung, die bei Vorliegen eines normalen Blutdruckes entweder gar nicht oder nur in geringem Maße auftritt. Derartig wirkende Substanzen sind jedoch selten, und meist ist es erforderlich, eine akut nicht in typischer Weise zu Drucksenkung führende Verbindung wiederholt zu geben, um einen deutlichen Effekt auf den Blutdruck zu erzielen. Dementsprechend lassen sich derartige Substanzen besser bei länger dauernder Anwendung am chronisch hypertonischen Tier auswerten als bei einmaliger Gabe.

IV. Untersuchungen am chronisch hypertonen Tier

1. Methoden zur Erzielung eines Hochdruckes. Obwohl die auslösenden Ursachen für die Veränderungen, die am Tier zu chronischer Blutdrucksteigerung führen, nicht mit den ätiologischen Faktoren der menschlichen Hochdruckkrankheit übereinstimmen, stellen einzelne Formen der experimentellen Hypertension die wichtigsten Versuchsanordnungen für die Prüfung blutdrucksenkender Pharmaka im Hinblick auf ihre praktische Anwendung dar. Dabei eignen sich diejenigen Methoden am besten, die nicht nur zu einem erhöhten Blutdruck, sondern auch noch zu weiteren pathologischen Veränderungen führen, die mit Läsionen vergleichbar sind, welche bei der Hochdruckkrankheit des Menschen auftreten. Alle der im folgenden angeführten Versuchsanordnungen haben den Nachteil, daß sie verhältnismäßig lange dauern, da sich an Ratten durchschnittlich erst nach 3—6 Wochen, an Hunden nach 2—3 Monaten ein konstanter Hochdruck entwickelt, und bis zur Manifestierung zusätzlicher Läsionen, besonders an den Nieren, vergeht meist noch mehr Zeit.

Die verschiedenen Arten der chronischen experimentellen Hypertension lassen sich nach den maßgebenden auslösenden Faktoren in nervös reflektorische, renale, endokrine und diätetische Formen einteilen

(Tab. 2). Als Versuchstiere werden meist Ratten oder Hunde verwendet, seltener Kaninchen, da die Blutdrucksteigerung bei dieser Tierart geringer ist als bei anderen. Für Routineversuche kommen in erster Linie Ratten in Betracht, während vergleichende Untersuchungen an Hunden nur ausnahmsweise möglich sein dürften.

Von den neurogenen Formen ist der Entzügelungshochdruck am Hund durch doppelseitige Excision des Carotissinus und Durchschneidung des n. depressor (Grimson[74]) gut reproduzierbar. Er wird durch totale Sympathektomie verhindert und fällt zur Norm ab, wenn die Nieren denerviert werden (Grimson[75]). Narkose mit Äther oder Barbituraten bewirkt Drucksenkung, aber keine Normalisierung[76], Ganglienblocker rufen eine stärkere Verminderung des Blutdruckes hervor als am normotonen Tier (Page u. MacCubbin[197]). Die bisher erhobenen Befunde über die Beeinflußbarkeit dieser Hochdruckform gehen nicht wesentlich über das hinaus, was mit einfacheren Methoden zu erreichen ist. Die technisch schwierige Ausschaltung der Blutdruckzügler an der Ratte ist versucht worden, doch genügen die bisherigen Erfahrungen noch nicht, um die Brauchbarkeit der Methode für Routineuntersuchungen zu beurteilen. Bisher haben sich keine für den Entzügelungshochdruck spezifischen Möglichkeiten der Beeinflussung nachweisen lassen (Breuninger[34]).

Audiogen und „neurotisch" bedingte chronische Blutdrucksteigerungen haben den Nachteil, daß eine lang dauernde Reizeinwirkung, meist während mehrerer Monate, erforderlich ist, um einen anhaltenden Hochdruck hervorzurufen und daß die Resultate nicht leicht reproduzierbar sind (Medoff u. Bongiovanni[81], Farris et al.[71], Yeakel et al. [89], Rothlin et al.[85]). Bei der audiogenen Hypertension ist es erforderlich, mit wilden oder halbwilden Ratten zu arbeiten, jedoch konnten wir in eigenen Versuchen auch dann nicht regelmäßig den von anderen Autoren beobachteten Hochdruck erzielen, so daß anzunehmen ist, daß für dessen Manifestierung zusätzlich genetische Faktoren eine Rolle spielen. Eine Hemmung des Druckanstieges ließ sich mit hydrierten Mutterkornalkaloiden erreichen (Rothlin et al.[84]).

Die übrigen zur „zentralen" Hypertension zu rechnenden Formen sind technisch schwierig und nur unter bestimmten Bedingungen zu reproduzieren. Der Erfolg der zentralen Ischämie durch Unterbindung der Carotiden beim Kaninchen (Rosenfeld[83]) hängt weitgehend von dem Grade ab, in dem die zentrale Zirkulation ausgeschaltet ist, und die durch Injektion von Kaolin in die Cysterne hervorgerufene intracraniale Drucksteigerung, die als verantwortlich für den Blutdruckanstieg angesehen wird, ist quantitativ nicht genau genug zu dosieren, um konstante und vergleichbare Druckanstiege zu ergeben (Dixon u. Heller[70], Heller[78]). Beide Methoden werden kaum noch angewendet.

Tabelle 2. *Verschiedene Formen von experimentell chronischer Hypertension und Maßnahmen, die den Druckanstieg beeinflussen (mit Ausnahme hypotensiv wirkender Stoffe)*

Auslösende Faktoren	Tierart	den Druckanstieg fördernde Maßnahmen	den Druckanstieg hemmende und drucksenkende Maßnahmen
nervöse			
Zentrale Ischämie	Kaninchen[339] Hund[69,72]		
Steigerung d. intrakranialen Druckes	Hund[78,70]		
Direkte zentrale Reizung	Katze[368]		Sympathektomie[368]
Ausschaltung d. Blutdruckzügler	Ratte[34], Kaninchen[80], Hund[74,75]		Sympathektomie[75]
„neurotische“	Ratte, Katze		Hypothalamische Läsionen[88]
audiogene	Ratte[71,77,81,84,89]		Eiweißmangel[77]
cardiovasculäre			
Exp. Isthmusstenose	Hund[214]		
renale			
Aortendrosselung	Ratte[242], Kaninchen, Katze, Hund[130,131]		
Hemmung der Nierendurchblutung: Drosselung der Nierenarterien (Goldblatt)	Ratte[78], Kaninchen[202,204], Hund[129,134], Affe[118]		Hypophysektomie[133,200], Thyreoidektomie(?)[98,126,177]
		ACTH, Cortexon[250,208], Cortison	Adrenalektomie[233], Sympathektomie[91] Hypophysenextrakt (Hund)[217]
		Renin[226], Thyroxin[92]	vorhergehende renale Ischämie[148]
Einkapselung der Nieren (Perinephritis)	Ratte[185,220,237,238], Kaninchen[139], Hund[139,195]	Eiweißreiche Diät[265,145], Kochsalz	Entfernung d. gedrosselten Niere[234,204,200,112,116,120], Renin[168,227,228,230], Nierenextrakt[140,147], Kochsalzentzug (Natrium)[119,328], Kaliumentzug Eiweißmangel[145], Panthotensäuremangel[175,289]
Injektion von Kaolin in die Nierenarterien	Ratte[170,176], Kaninchen, Hund[187]		
Doppelseitige Nephrektomie	Ratte[100,162], Hund[386,385,192]	Kochsalz[183], Renin[178,183]	Pitressin[163]
Nephritis (Masugi)	Ratte[369,160], Kaninchen[184], Hund	Cortexon[160], Cortison[369]	Adrenalektomie
Pyelonephritis	Kaninchen, Ratte[218,96], Hund[347]		

Tabelle 2 *(Fortsetzung)*

Auslösende Faktoren	Tierart	den Druckanstieg fördernde Maßnahmen	den Druckanstieg hemmende und drucksenkende Maßnahmen
endokrine			
Nebennieren-regeneration nach Enucleation	juvenile Ratte[304,310]	Kochsalz[304,310], unilaterale Nephrektomie[304,310]	Hypophysektomie[314], Entfernung des Regenerates[315], Cortisol
Cortexon + Kochsalz	Huhn[401,404], Ratte[291,390]		
Post Cortexon Hochdruck	Ratte[242,270]	unilaterale Nephrektomie[403], totale Nephrektomie[269,277] Adrenalektomie, STH[301] LAP[374], Thyroxin, Calciferol, Renin[375]	Hypophysektomie[294], Thyreoidektomie[292,295], Parathyreoidektomie[287,295], Nierenentfernung (Post Cortexon) Kochsalzentzug[274,407], Kaliummangel, Mangelernährung[321], Ascorbinsäure[529/530]
9α-Fluoro(Chloro)-hydrocortison + Kochsalz	Ratte[352,394]		
Methylandrostendiol + Kochsalz	Ratte[390,306,311]	unilaterale Nephrektomie[306]	Adrenalektomie[390]
2α-Methyl-9α-Fluorocortisol + Kochsalz	Ratte[398,397], Affe[399]	unilaterale Nephrektomie[398]	
Aldosteron + Kochsalz	Ratte[276, 283]	unilaterale Nephrektomie[276]	
Cortison	Ratte[241,369,281]	Adrenalektomie[281]	
Cortisol	Ratte[258, 260]	Cortexon[241,280]	Eiweißarme Diät[249]
Hypophysenvorderlappen Extrakte (LAP)	Hund, Ratte[291]	Eiweißreiche Diät[265]	
STH	Ratte[393]		Cortison[390]
diätetische			
Kochsalz	Huhn[172], Ratte[332,331] Hund	unilaterale Nephrektomie	
Cholinmangel	juvenile Ratte[334,329,333]	Cortexon[240]	
B_6-Mangel	Ratte[335]		
Spontane Hypertension	Hund[345], Kaninchen[345]		Renin[345]
Parabiose	Ratte[171]		Trennung der Parabiose[171], Adrenalektomie des hyperton. Partners

Für die Erforschung der Pathogenese der experimentellen Hypertonie sind die renalen Formen besonders wichtig, wobei die Drosselung einer oder beider Nierenarterien am Hund (Goldblatt et al.[134]) oder an der Ratte (Byrom u. Wilson[35]), sowie die verschiedenen Modifikationen der Niereneinkapselung, meist nach Entfernung der anderen Niere, am häufigsten angewendet werden. Allen diesen Methoden ist die Verminderung der Blutzufuhr zu den Nieren bzw. der Durchblutung der Nierenrinde gemeinsam. Die Klammer kann entweder an einer oder an beiden Nierenarterien angelegt werden. Die besten Resultate sind beim unilateral nephrektomierten Tier durch Klammern der im Organismus verbliebenen Niere zu erzielen. Die Stärke der Drosselung der Nierenarterie ist nicht ohne weiteres für die Intensität der Hypertension maßgebend, und sowohl zu feste als auch zu geringe Drosselung kann zu ungenügendem Druckanstieg führen. Bei weiblichen Tieren entwickelt sich der Hochdruck rascher, wobei die Intensität der Gefäß- und Nierenläsionen der Höhe des Druckes nicht parallel geht (Bein, Desaulles u. Loustatot[348]).

Alle Methoden der Einkapselung [Umgeben der Niere mit einem Faden (Achter-Ligatur (Grollman[139]), Umhüllen mit Cellophan (Page[195]), Celluloseacetat (Meier u. Zbinden[185]), Gummi (Abrams u. Sobin[90] oder Aufsprayen eines Kunstharzes] haben zur Folge, daß sich eine Perinephritis entwickelt, die die Durchblutungseinschränkung verstärkt, welche in den äußeren Rindenschichten nach Anlegen der Kapsel auftritt. Eine weitere Möglichkeit der Nierenschädigung besteht in Röntgenbestrahlung der Niere an der unilateral nephrektomierten Ratte (Zollinger[238]).

Bei Einkapselung oder Umhüllung sind am unilateral nephrektomierten Tier mit größerer Regelmäßigkeit höhere Drucke zu erzielen als bei Anwesenheit beider Nieren, da die im Anschluß an die Nierenentfernung einsetzende kompensatorische Hypertrophie der zurückbleibenden Niere einen zunehmenden Druck des umgebenden Fremdkörpers auf die Niere bedingt, durch den die Durchblutung in den äußeren Rindenschichten vermindert wird. Die Stärke des auf die Niere ausgeübten Druckes ist innerhalb eines bestimmten Bereiches von untergeordneter Bedeutung für die Intensität der resultierenden Hypertension. Ist dagegen der Druck auf die Niere zu stark, so wird die Nierenfunktion beeinträchtigt, das Allgemeinbefinden des Tieres verschlechtert sich und der Blutdruck fällt ab. Es ist daher zweckmäßig, die Kapsel entweder nicht zu eng anzulegen oder sie nach einiger Zeit zu entfernen. Zu feste Einkapselung der Niere ist mit dem Zustand vergleichbar, der sich bei zu starker Drosselung der art. renalis am unilateral nephrektomierten Tier entwickelt.

Gabe von Kochsalzlösung (0,5%) anstelle von Wasser als Trinkflüssigkeit kann die Intensität und die Geschwindigkeit des Blutdruckanstieges

verstärken, jedoch besteht bei Einschränkung der Nierendurchblutung eine erhöhte Empfindlichkeit gegenüber Kochsalz, so daß bei zu starker Überdosierung von Kochsalz Verschlechterung des Allgemeinbefindens und Druckabfall auftreten. In eigenen Versuchen konnten wir bei Einkapselung mit Celluloseacetat am unilateral nephrektomierten Tier keinen Hochdruck erzielen, wenn 1%ige Kochsalzlösung zum Trinken gegeben wurde, während der Druck anstieg, wenn die Tiere Wasser erhielten.

Nach doppelseitiger Nephrektomie tritt beim Hund ein Hochdruck auf, wenn es gelingt, die Tiere durch Peritonealdialyse oder entsprechende Maßnahmen genügend lange am Leben zu erhalten (Grollman et al.[143], Muirhead et al.[386], Kolff u. Page[163]), jedoch haben nicht alle Autoren diese Befunde bestätigt (Leonards u. Heisler[174]). Bei der Ratte kann der Druck innerhalb von 3—4 Tagen nach Nierenentfernung ansteigen, besonders wenn die Tiere vorher kochsalzreich ernährt werden. Es ist auch versucht worden, Ratten nach Nierenentfernung durch peritoneale Spülungen längere Zeit am Leben zu erhalten, wobei jedoch nicht bei allen so behandelten Tieren ein Hochdruck auftrat[162].

Die Masugi Nephritis am Kaninchen oder an der Ratte (nephrotoxische Nephritis) führt nur zu verhältnismäßig geringem Druckanstieg, der sich allerdings bei der Ratte durch gleichzeitige Gabe von Cortexon und Kochsalz verstärken läßt (Knowlton et al.[160]).Für die routinemäßige Anwendung bietet die Methode Schwierigkeiten, ebenso die experimentelle Pyelonephritis, die nach Unterbindung des Ureters und intravenöser Injektion von Colibacillen auftritt (Spitznagel u. Schroeder[218]).

Die größte praktische Bedeutung besitzen heute die *endokrinen* Hochdruckformen, von denen die Überdosierung von Cortexon und Kochsalz an der Ratte die breiteste Anwendung findet (Selye[303]). Außer der Blutdrucksteigerung treten dabei Herzhypertrophie und typische Gefäßläsionen auf, besonders in den Nieren, im Mesenterialgebiet und im Herzmuskel, die verschiedentlich mit den Gefäßveränderungen, wie sie sich bei den malignen Verlaufsformen der menschlichen Hypertension finden, verglichen worden sind. Voraussetzung für die Entwicklung eines Cortexonhochdruckes ist die gleichzeitige Zufuhr von Kochsalz, am einfachsten in Form einer 1%igen Lösung, die als Trinkflüssigkeit[244, 274,407] anstelle von Wasser gegeben wird. Zusätzliche fördernde Maßnahmen sind unilaterale Nephrektomie und bilaterale Adrenalektomie (Selye et al.[401]). Es handelt sich somit nicht um eine rein endokrine Form des Hochdruckes, sondern um eine Kombination mit einer diätetischen, da für den Druckanstieg die Überladung des Organismus mit Kochsalz bzw. mit Natrium ausschlaggebend ist, wobei das die Natriumretention fördernde Cortexon lediglich einen begünstigenden Faktor darstellt. Hohe Dosen von Cortexon ohne gleichzeitige Zufuhr von Kochsalz führen

weder zu Hochdruck noch zu anderen typischen Veränderungen der Cortexonüberdosierung (Selye et al.[404,407]) (Abb. 1). Dagegen gelingt es, durch alleinige Gabe von Kochsalz sowohl einen Hochdruck als auch Gefäßschädigungen hervorzurufen, die weitgehende Ähnlichkeit mit den bei Überdosierung von Cortexon und Salz auftretenden Veränderungen besitzen (Meneely et al.[331]). Für die Auslösung der Hypertension eignen sich Depotformen von Cortexonacetat am besten, entweder Kristallsuspensionen oder Implantationstabletten, während mit kurz wirkenden

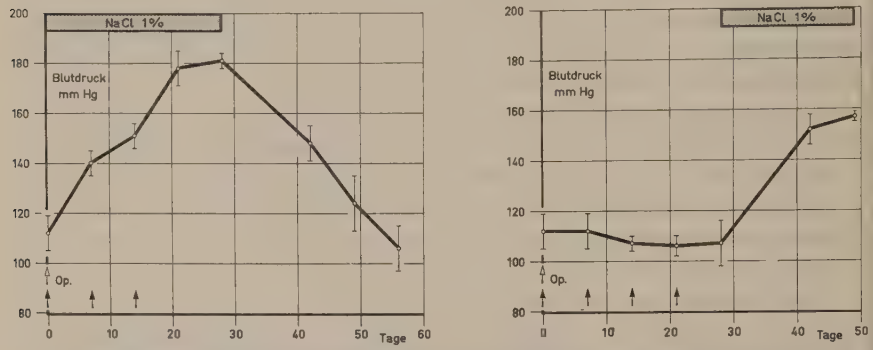


Abb. 1. Abhängigkeit des Blutdruckanstieges bei Cortexonüberdosierung von der Kochsalzaufnahme. Links: Während der ersten 4 Wochen des Versuches 1% ige Kochsalzlösung als Trinkflüssigkeit, dann Umsetzen auf Wasser und salzarmes Futter. Rechts: Während der ersten 4 Wochen erhielten die Tiere salzarmes Futter und Wasser zum Trinken, dann Umsetzen auf 1% ige Kochsalzlösung. Weiße Pfeile: Unilaterale Nephrektomie. Schwarze Pfeile: Je 50 mg/kg Cortexonacetat als Kristallsuspension. Durchschnittswerte von mindestens je 10 Tieren

Formen wie Cortexonglukosid auch bei Gabe sehr hoher Dosen kein Hochdruck zu erzielen ist (Abb. 2).

Durch Cortexon läßt sich ein Dauerhochdruck hervorrufen, der auch nach Wegfall der auslösenden Noxe bestehen bleibt. Bei dieser als „sustained hypertension" (Friedman et al.[252]), „metacorticoid hypertension" (Green et al.[270]) oder Post Cortexonhochdruck bezeichneten Form sind die pathologisch-anatomischen Läsionen, besonders in der Niere, so schwer, daß sie genügen, um einen erhöhten Blutdruck aufrechtzuerhalten. Dementsprechend führt Nephrektomie zu Drucksenkung (Green[266]). Es liegt somit hier ein Übergang von endokrinem zu renalem Hochdruck vor, der zeigt, daß die verschieden ausgelösten Formen experimenteller Hypertension nicht scharf voneinander abzugrenzen sind (Abb. 3).

In gleicher Weise wie durch Cortexon läßt sich auch durch andere Steroide mit starker salzretinierender Wirkung ein Hochdruck erzielen. Besonders die unnatürlichen halogenierten und methylierten Derivate 9α-Chloro oder 9α-Fluorocortison, -cortisol (Friedman et al.[260], Selye[398], sowie 2-Methyl-9α-Fluorocortisol sind verwendet worden, wobei es mit

der zuletzt genannten Verbindung gelang, Nephrosklerose am Affen hervorzurufen (SELYE u. BOIS[397]). Im Gegensatz dazu ist es wesentlich schwieriger, mit dem natürlichen natriumretinierenden Hormon, dem Aldosteron, Hochdruck zu erzeugen, von dem relativ höhere Dosen erforderlich sind als von Cortexon (GROSS et al.[275,276], GAUNT et al.[264]). Keine dieser Formen dürfte Vorteile gegenüber dem Cortexonhochdruck besitzen.

Auch bei Überdosierung mit Methylandrostendiol (MAD) ist es erforderlich, gleichzeitig Kochsalz zu geben, um einen Hochdruck zu erzielen, und einseitige Nephrektomie wirkt ebenfalls begünstigend, während nach Adrenalektomie der Druck nicht ansteigt (SKELTON[306,311]). Die erforderlichen Dosen betragen an der Ratte 10 mg pro Tag und sind damit wesentlich höher als von den natürlichen oder körperfremden Corticoiden. Obwohl die außer der Blutdrucksteigerung auftretenden Gefäßveränderungen sehr ähnlich sind wie beim Cortexonhochdruck, liegt ihnen offenbar nicht der gleiche Mechanismus zugrunde. Die zuerst von SELYE (1954) in der Nebennierenrinde beschriebenen degenerativen Veränderungen sind nicht spezifisch für die Überdosierung mit MAD, sondern sind auch unter verschiedenen anderen Versuchsbedingungen anzutreffen, die nicht mit Hypertension einhergehen (LOUSTALOT[371]). Der MAD-Hochdruck ist wesentlich schwerer auszulösen als der Cortexonhochdruck, ebenso wie bei diesem sind weibliche Tiere empfindlicher. Für die Testierung drucksenkender Pharmaka bietet die Methode keine Vorteile, da sie nicht spezifisch ist, so daß sie im Hinblick auf die hohen Dosen und die schwerer reproduzierbaren Resultate nur ausnahmsweise für derartige Untersuchungen in Betracht kommen dürfte.

Auch durch Überdosierung mit den entzündungshemmend wirkenden Corticoiden Cortison und Cortisol läßt sich ein Hochdruck an der Ratte hervorrufen (KNOWLTON et al.[369,281]. FRIEDMAN et al.[261]), und mit Corticosteron oder Prednison konnten wir eine ähnliche Drucksteigerung erzielen. Die Hypertension, die durch diese verschiedenen Steroide ausgelöst wird, unterscheidet sich in grundlegender Weise vom Cortexonhochdruck. Ihre Entwicklung ist nicht an die Anwesenheit von Kochsalz gebunden und die pathologischen Nieren- und Gefäßveränderungen sind wesentlich geringer oder fehlen ganz (Abb. 4). Adrenalektomie steigert die Empfindlichkeit, dagegen wirkt unilaterale Nephrektomie nicht fördernd. Der Druck steigt etwas rascher an als bei Cortexongaben, erreicht jedoch im allgemeinen nicht gleich hohe Werte und fällt nach Unterbrechung der Behandlung rasch ab. Eine dem Post Cortexonhochdruck vergleichbare Form ist nicht bekannt. Da keine geeigneten Depotformen dieser Corticoide vorliegen, ist es notwendig, sie täglich oder alle 2 Tage zu injizieren in Dosen von 1—3 mg. Dabei treten Gewichtsabnahme oder -stillstand, Verschlechterung des Allgemeinzustandes

und Neigung zu eitrigen Infektionen auf, besonders im Gebiet der Injektionsstellen, so daß es zu einem Abfall des erhöhten Blutdruckes kommen kann. Die Gefahr der zu starken Überdosierung, bei der die

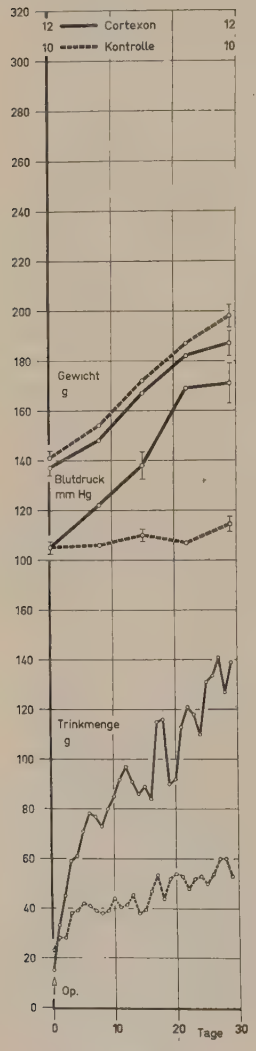


Abb. 2a

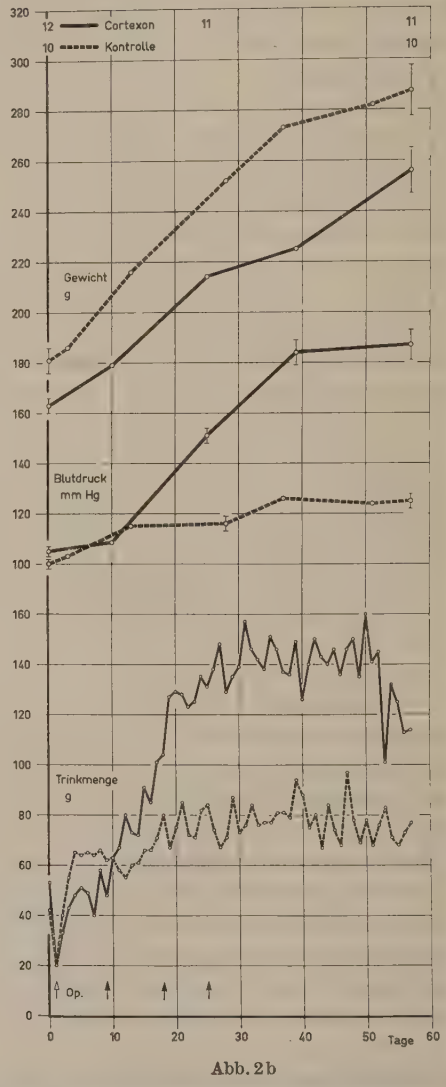


Abb. 2b

Abb. 2a—c. Hochdruck an der unilateral nephrektomierten Ratte ausgelöst durch verschiedene Dosen und Applikationsformen von Cortexonacetat. a tägliche Injektion von 2,5 mg in öliger Lösung b 3malige Injektion von 50 mg/kg in Kristallsuspension (0,1 mm durchschnittlicher Kristalldurchmesser) in wöchentlichen Abständen (schwarze Pfeile), c Implantation von 4 Tabletten à 25 mg (weißer Pfeil). Von oben nach unten: Gewicht in Gramm, Blutdruck in Millimeter Hg, tägliche Trinkmenge (1% ige Kochsalzlösung) in Gramm

Tiere rasch zugrunde gehen, ist wesentlich größer als beim Cortexonhochdruck, so daß es schwieriger ist, eine konstante Blutdrucksteigerung mit diesen Corticoiden aufrechtzuerhalten. Trotz des andersartigen Wirkungsmechanismus haben sich bisher keine vom Cortexonhochdruck abweichenden Befunde über die medikamentöse Beeinflussung dieser Form der endokrinen Hypertension ergeben.

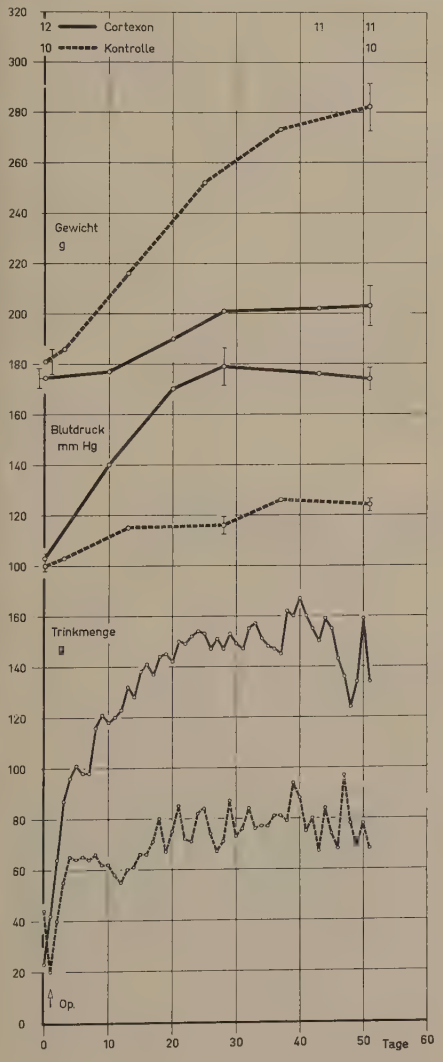


Abb. 2 c

Der kürzlich von SKELTON[304] beschriebene Enucleationshochdruck an der Ratte entwickelt sich an unilateral nephrektomierten juvenilen Tieren, bei denen eine Nebenniere entfernt und von der anderen nur die Kapsel im Tier belassen wird. Das sich daraus entwickelnde Regenerat von Nebennierengewebe ist in der Lage, einen Hochdruck auszulösen (SKELTON[310,305]), wenn die Tiere 1%ige Kochsalzlösung zum Trinken erhalten. Der Enucleationshochdruck steht somit dem Cortexonhochdruck näher als dem Cortison/Cortisolhochdruck. Die naheliegende Vermutung, daß ihm eine Überproduktion von Aldosteron zugrunde liegt, ließ sich bisher nicht beweisen (CHART et al.[515]). Dagegen ist an die Möglichkeit zu denken, daß das von der Ratte sezernierte Corticosteron dafür verantwortlich ist. Dafür würde sprechen, daß es gelingt, den Enucleationshochdruck durch Cortisol zu hemmen (SKELTON[313]). Auch bei Einhaltung der von SKELTON angegebenen Bedingungen ist der Enucleationshochdruck nicht leicht reproduzierbar, und in eigenen Versuchen trat nur in einem kleinen Prozentsatz der operierten Tiere eine signifikante Drucksteigerung auf.

Trotzdem verdient diese Form der experimentellen Hypertension weitere Bearbeitung, weil sie den Vorteil hat, daß nach dem Eingriff keine weiteren Maßnahmen mehr erforderlich sind und weil für

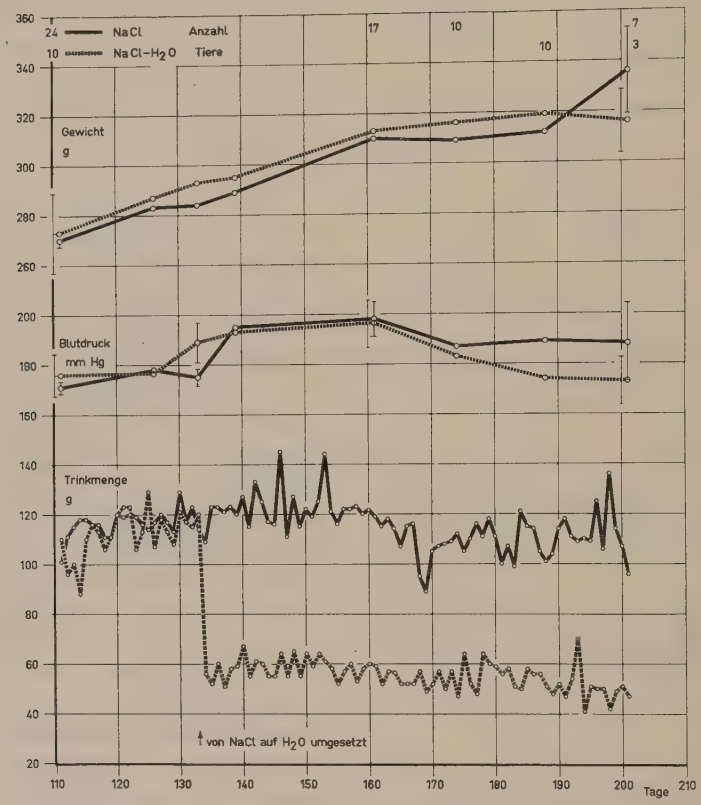


Abb. 3. Post Cortexonhochdruck an der unilateral nephrektomierten Ratte. 110 Tage nach Versuchsbeginn. Letzte Cortexoninjektion am 70. Versuchstag. Durchschnittlicher Blutdruck von 170 bis 180 mm Hg. Umsetzen der Trinkflüssigkeit von 1% iger Kochsalzlösung auf Wasser bei einer Versuchsgruppe (•••) am 132. Tag führt zwar zu einer sofortigen Abnahme der täglichen Trinkmenge auf ungefähr die Hälfte, aber nicht zu einer Verminderung des Blutdruckes. Bei Testierung der Nieren zwischen dem 190. und 200. Tag ließen sich in beiden Gruppen keine pressorischen Substanzen nachweisen. Ordinaten von oben nach unten: Gewicht in Gramm, Blutdruck in Millimeter Hg, Flüssigkeitsaufnahme in Gramm. Abszisse: Zeit in Tagen

ihr Zustandekommen von der körpereigenen Nebenniere produzierte Stoffe verantwortlich sind.

Die diätetisch ausgelösten Formen der Hypertension lassen sich in die bereits besprochenen Gruppen einordnen. Die durch Überdosierung von Kochsalz hervorgerufene Drucksteigerung benötigt zu ihrer Entwicklung wesentlich länger als wenn gleichzeitig Cortexon gegeben wird,

unterscheidet sich jedoch nur quantitativ vom Cortexonhochdruck (MENEELY et al.[332]).

Die Hypertension, die im Anschluß an eine Cholinmangel-Ernährung bei juvenilen Ratten auftritt, stellt eine besondere Form des renalen Hochdruckes dar, da sich als Folge des Cholinmangels Nierenschädigungen entwickeln, die später, wenn die Tiere ausgewachsen sind, zu chronischer Blutdrucksteigerung führen (HARTROFT u. BEST[329], MOSES[334]). Auch bei Mangel an Vitamin B_6 ist Hochdruck beobachtet worden (OLSEN et al.[335]). Bei verschiedenen Tierarten ist das Auftreten spontaner Hypertension beschrieben worden, und es gibt Inzuchtstämme, bei denen sich die Anlage zu erhöhtem Blutdruck vererbt (ALEXANDER et al.[343], SKOM u. WAKERLIN[345]). Unseres Wissens sind jedoch bisher keine systematischen Untersuchungen über den Einfluß drucksenkender Pharmaka bei spontanem Hochdruck vorgenommen worden.

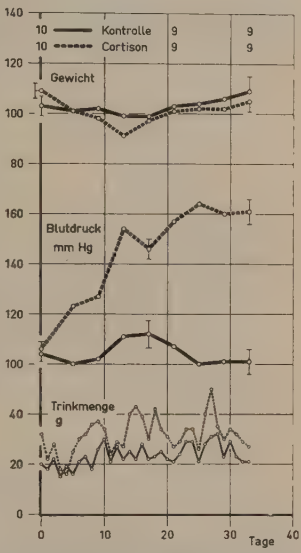


Abb. 4. Cortisonhochdruck an der nebennierenlosen Ratte. Tägliche Injektion von 2,5 mg Cortison s. c. Die Tiere der ebenfalls adrenalektomierten Kontrollgruppe erhielten täglich 0,1 mg Cortisol s. c. als Erhaltungsdosis. Trinkflüssigkeit Wasser. Von oben nach unten: Körpergewicht in Gramm, Blutdruck in Millimeter Hg, Flüssigkeitsaufnahme in Gramm. Bereits 12 Tage nach Beginn der Cortisonbehandlung ist der Druck auf 157 mm Hg angestiegen, um dann bis zum 32. Tag auf Werten von 160 mm Hg zu verbleiben. Nur geringe Zunahme der Trinkmenge. Keine wesentliche Gewichtszunahme während des Versuches. Je 10 Tiere pro Gruppe zu Versuchsbeginn

2. Beeinflussung des experimentellen Hochdrucks. Von entscheidender Bedeutung für die Beurteilung der Wirkung einer drucksenkenden Substanz bei chronischer experimenteller Hypertension ist die Technik der Bestimmung des Blutdruckes, der das einzige Kriterium für den Einfluß der untersuchten Pharmaka darstellt, solange die Tiere am Leben sind, während später die morphologisch erfaßbaren Veränderungen zusätzliche Aussagen ermöglichen. Im allgemeinen erfolgt die Druckmessung an der Ratte unblutig mit der plethysmographischen Methode (WILLIAMS et al.[48]), meist am leicht mit Äther narkotisierten, seltener, weil wesentlich zeitraubender, am wachen Tier, wobei zwischen den in leichter Äthernarkose und am nicht narkotisierten Tier gefundenen Werten keine wesentlichen Unterschiede bestehen. Zu tiefe und lang dauernde Äthernarkose führt allerdings zu Druckabfall und kann eine Wirkung des untersuchten Präparates vortäuschen (Abb. 5). Obwohl dieser Methode Mängel anhaften und die Genauigkeit zu wünschen übrig läßt, liefert sie bei Einhalten gleicher Bedingungen und bei Verwendung einer genügend

großen Zahl von Tieren verläßliche Werte[43] und ist wegen ihrer Einfachheit für Routineuntersuchungen den mit photoelektrischer oder akustischer Übertragung arbeitenden Verfahren vorzuziehen (Kersten[39], Brecht u. Boucke[32]).

Am Hund und auch an der Ratte ist eine direkte Druckmessung durch Arterienpunktion, meist der art. femoralis, möglich, wobei sich der systolische und der diastolische Druck bestimmen lassen. An der Ratte kann durch Einführung einer Kanüle in die Aorta der Druck während

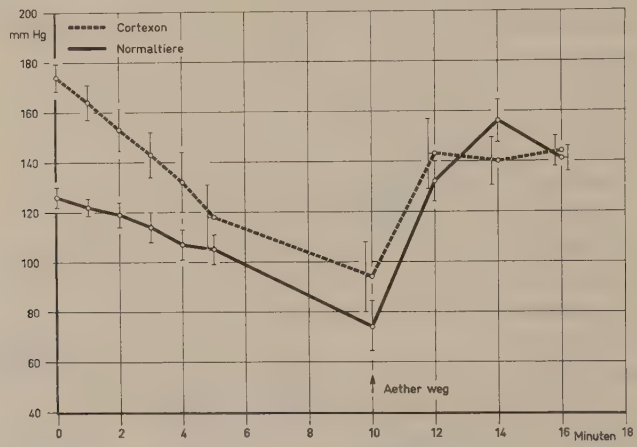


Abb. 5. Abhängigkeit des Blutdruckes von der Dauer der Äthernarkose bei Ratten mit normalem (——) und erhöhtem Blutdruck (----). Zu Beginn des Versuches plethysmographische Messung am Schwanz in leichter Äthernarkose, anschließend alle 2 min 0,5 ml Äther auf Wattebausch. Bei länger dauernder Narkose fällt der Blutdruck auf unternormale Werte ab, um dann beim Aufwachen vorübergehend auf übernormale Werte anzusteigen. Je 6 Tiere pro Gruppe

Wochen verfolgt werden[46]. Die unblutige fortlaufende Druckmessung an der Carotisschlinge ist auf größere Tierarten (Hund, Kaninchen) beschränkt (Schroeder[45]).

Während bei den verschiedenen Formen der neurogenen Hypertonie nur vereinzelte Versuche über die medikamentöse Beeinflussung vorgenommen wurden, liegen systematische Untersuchungen beim renalen Hochdruck des Hundes und besonders bei der Cortexon-Hypertension der Ratte vor (Tab. 3). Dabei ergab sich, daß von den im akuten Versuch drucksenkenden Stoffen Reserpin und andere Rauwolfia-Alkaloide, Hydrazinophthalazine, vereinzelte Sympathicolytica, Ganglienblocker und Veratrumalkaloide in der Lage sind, den Hochdruck entweder zu senken, seine Entwicklung zu hemmen oder zu verhindern. Es sind jedoch nicht alle Substanzen, die im akuten Versuch eine typische Drucksenkung zeigen oder die in der Therapie der menschlichen Hochdruckkrankheit angewendet werden, bei den verschiedenen Formen der chronisch experimentellen Hypertension gleich wirksam. So wirken die

Tabelle 3. *Drucksenkung durch Pharmaka bei verschieden ausgelösten Formen experimentell chronischer Hypertension*

Art des Hochdruckes	akut drucksenkende Substanzen	ohne spez. akute Druckwirkung
nervös		
zentrale Ischämie	* Dibenzylin[69], (Hund)	
Ausschaltung der Blutdruckzügler	* Ganglienblocker (TEA), Hexamethonium[197] (Hund) Veratramin[522] (Hund)	Chinin, Chinidin (Hund)[525] Paredrin[547]
	* Reserpin[77] (Ratte)	* Barbiturate (Nembutal[76,86])
audiogen	* Hydrierte Mutterkornalkaloide[85] (Ratte)	(Hund[76], Kan.)
Steigerung des intrakranialen Druckes	Ergotamin[544]	
renal		
Drosselung der Nierenarterien (Hund, Ratte)	* Apresolin[523] (Ratte, Hund)	Nierenextrakte[140] (Ratte)
	* Reserpin[523] (Ratte)	Antirenin (Hund, Affe[118])
oder Einkapseln der Niere (meist Ratte)	* Veratrumalkaloide (Protoveratrin) (Veratramin) (Hund[536], Ratte)	Fischöl[522] (Ratte, Hund) Paredrin[547,562] (Ratte[178] Hund[329])
	* Sympathicolytica (Dibenamin[545]), Sy-2[518] (Hund, Ratte[545])	Xylochinon[550] (Hund) Thiouracil[92,98] (Ratte)
	Yohimbin[543/549] (Spätstadium, Ratte)	
	Mercaptanderivate[551] (Ratte)	
	* Nitroprussid Natrium[517] (Hund)	* Rhodan[506,507] (Hund, Ratte) Pitressin[124] Neotetrazolium[505] (Ratte) Nembutal[548] (Spätstadium, Ratte)
endokrin		
Nebennierenregeneration (Ratte)	* Apresolin[515]	Amphenon[514]
	* Reserpin[515]	
Cortexon + Kochsalz (Ratte)	* Apresolin[519,523,525]	Narkose
	* Regitin[523]	Propylthiouracil[293]
	* Reserpin[520,521,523,524,317]	Steroide (U-D 160[554], SC 6584[556])
	* Dibenamin[545]	* Heparin[527,231]
	* Rescinnamin	Pitressin[258]
	* Deserpidin	* Ionenaustauscher[516] (Na Entzug)
	* Rauwolfia Extrakte	Diuretika[316]
	* Chlorpromazin	Antihistaminika[525,526,537,553]
	* Veratrumalkaloide (Veriloid[555])	Östrogene[560,315]
		Methylglukose[308]
		Vitamin E[239]
Cortison (Ratte)	* Apresolin[523,524,317]	Ascorbinsäure[239,530,529]
Cortisol	* Reserpin[520,521,523,524,317]	Pitressin[262]

Die mit * versehenen Substanzen werden in der Therapie der menschlichen Hypertension angewendet oder sind versucht worden.

Ganglienblocker nicht bei der renalen oder bei der Cortexonhypertonie, und zwar weder bei prophylaktischer noch bei curativer Gabe, und das gleiche gilt für Protoveratrin, das an der allerdings gegenüber diesem Alkaloid unempfindlichen Ratte den Druck nicht eindeutig senkt.

Bei Behandlungsversuchen an der durch Überdosierung von Cortexon und Kochsalz ausgelösten Hypertension ist eine tägliche Kontrolle der Trinkmengen erforderlich, da die Intensität des Hochdruckes von der Natriummenge abhängt, die die Tiere bei diesen Versuchen in Form 1%iger Kochsalzlösung aufnehmen. Unter dem Einfluß bestimmter Substanzen trinken die Tiere weniger, so daß ein therapeutischer Effekt vorgetäuscht werden kann. Darauf scheint die Wirkung von Antihistaminica bei der Cortexon-Hypertension zu beruhen (Braun-Menendez[436], Masson et al.[537]), während andererseits die bei Reserpin-Behandlung beobachtete Verminderung der Flüssigkeitsaufnahme nicht allein für die Drucksenkung maßgebend ist, wofür unter anderem auch Versuche bei renaler Hypertension sprechen (Gaunt et al[520], Gross[523]).

Die große praktische Bedeutung für die Verwendung der experimentellen Hypertension im Rahmen dieser Untersuchungen liegt jedoch darin, daß es damit gelingen kann, den blutdrucksenkenden Effekt von Substanzen oder Maßnahmen nachzuweisen, die entweder keine akute Drucksenkung herbeiführen oder deren Einfluß auf den Blutdruck erst nach wiederholter Anwendung zur Auswirkung gelangt. Hier sind zunächst Beeinträchtigungen regulatorischer Funktionen (hypothalamische Läsionen, Sympathektomie), bestimmter endokriner Drüsen (Schilddrüse, Hypophyse, Nebennieren), sowie diätetische Faktoren zu nennen (Tab. 2). Adrenalektomie senkt den Druck bei den renalen Formen, Hypophysektomie beim Cortexonhochdruck. Durch natriumarme Ernährung oder Ionenaustauscher (Cier u. Klepping[516]) gelingt es, eine Normalisierung des Druckes bei Cortexonhypertonie zu erreichen, vorausgesetzt, daß nicht bereits irreversible anatomische Veränderungen vorliegen. Ebenso soll kaliumfreie Nahrung den Cortexonhochdruck verhindern (Rosenman et al.[339]), Eiweißmangel senkt den Druck bei renaler und neurogener Hypertension (Händel et al.[77], Handler et al.[145]), und Pantothensäuremangel führt bei renaler Hypertension eine Normalisierung des Druckes herbei (Lewis u. Page[175,289]).

Von den Substanzen, die im akuten Versuch keine spezifische Drucksenkung hervorrufen und den experimentellen Hochdruck herabsetzen, seien nur einige angeführt (Tab. 3): Nierenextrakte und Antirenin bei den renalen Formen (Grollman[140], Wakerlin[225,228,230]), sowie das kürzlich beschriebene Neotetrazolium (Antopol u. Zweifach[505]). Bestimmte Steroide — Androstanderivate (Stafford[554], Sturtevant[556]) — senken den Cortexon- oder Post Cortexonhochdruck, ohne eine Eigenwirkung zu zeigen. Für Schilddrüsenhemmstoffe ist, sowohl eine Unterdrückung der renalen

(Bächtold[92]) als auch der Cortexonhypertension (Salgado[293]) angegeben worden, ohne daß dieser Befund eine Bestätigung bei der Behandlung des menschlichen Hochdruckes gefunden hat. Heparin, dessen klinische Bedeutung bei der Behandlung der Hypertension umstritten ist, senkt den Cortexonhochdruck (Waser u. Keller[231], Hardegg et al.[527]). Auffallend ist, daß auch blutdrucksteigernd wirkende Substanzen eine Verminderung der experimentellen Hypertension hervorrufen können, wie das Sympathicomimeticum Paredrin, das den renalen und neurogenen Hochdruck senkt (Wastl[562], Ohler u. Wakerlin[547]) und Vasopressin, das bei renalem und verschiedenen Formen des endrokrinen Hochdruckes wirken soll (Friedman et al.[124,258,262]). Eine praktische Bedeutung kommt diesen Beobachtungen allerdings nicht zu.

Diese Befunde zeigen, daß es viele Möglichkeiten gibt, die verschiedenen Formen der experimentellen Hypertension zu beeinflussen, daß jedoch bisher keine Substanzen bekannt sind, die eine spezifische Wirkung auf eine bestimmte Art des Hochdruckes besitzen. Es muß daher angenommen werden, daß diejenigen Pharmaka, mit denen sich eine Drucksenkung erzielen läßt, im wesentlichen symptomatisch in gleicher oder ähnlicher Weise auf einen den einzelnen Hochdruckformen gemeinsamen Mechanismus einwirken.

Das Ziel weiterer Untersuchungen ist es, nach Kriterien zu suchen, die eine bessere Differenzierung sowohl der drucksteigernden als auch der drucksenkenden Maßnahmen ermöglichen.

Bei einem Vergleich der experimentellen Befunde und der klinischen Erfahrungen mit blutdrucksenkenden Pharmaka lassen sich drei Gruppen von Substanzen voneinander abgrenzen:

1. Verbindungen, die sowohl experimentell als auch klinisch wirksam sind,
2. Verbindungen, die experimentell wirken, aber klinisch von zweifelhaftem oder keinem Wert sind,
3. Verbindungen, für die sich experimentell keine Wirkung nachweisen läßt, die aber therapeutisch mit Erfolg angewendet werden.

Die Gründe für dieses abweichende Verhalten sind zum Teil bereits einleitend angeführt worden. Es kommt hinzu, daß verschiedene der experimentell wirksamen Verbindungen beim Menschen nicht in den Dosen gegeben werden können, die notwendig sind, um eine Drucksenkung zu erreichen, da bereits vorher Nebenwirkungen auftreten. Auch bei Berücksichtigung dieser Tatsachen bleiben jedoch verschiedene Diskrepanzen zwischen den experimentellen Befunden und den therapeutischen Erfahrungen bestehen, die sich erst dann klären lassen werden, wenn weitere Erkenntnisse über die Pathogenese der experimentellen Hypertension und der Hochdruckkrankheit des Menschen vorliegen und wenn es gelingt, die Zusammenhänge zwischen den verschiedenen Formen sowie die ihnen gemeinsamen Ursachen klarer zu erfassen.

Literatur

(Die in eckige Klammern gesetzten Ziffern beziehen sich auf die Tab. 1—3 der Arbeit R. Meier u. P. Lichtlen.)

A. Normotones Tier

1. Akute Blutdrucksteigerung und -senkung

[1] Barnett, A., R. Blacket, A. E. Depoorter, P. H. Sanderson and G. M. Wilson: Clin. Sci. **9**, 151 (1950). — [2] Boxill, G. C., and R. V. Brown: J. Pharmacol. a. Exper. Ther. **115**, 1 (1955). — [3] Bradley, S. E., and B. Parker: J. Clin. Invest. **20**, 715 (1941). — [4] Conway, J.: J. of Physiol. **127**, 69 (1955) [T 28]. — [5] Corcoran, A. C., K. G. Kohlstaedt and I. H. Page: Proc. Soc. Exper. Biol. a. Med. **46**, 244 (1941). — [6] Grollman, A., T. R. Harrison and J. R. Williams: J. Pharmacol. a. Exper. Ther. **69**, 149 (1940) [027]. — [7] Houssay, B. A., and L. Dexter: Ann. Int. Med. **17**, 451 (1942) [A 26, S 26, A 27, S 27, A 28, S 28]. — [8] McCubbin, J. W., and I. H. Page: Amer. J. Physiol. **170**, 309 (1952). — [9] Masson, G. M. C., F. Del Greco, A. C. Corcoran and I. H. Page: Proc. Soc. Exper. Biol. a. Med. **83**, 631 (1953) [A 26]. — [10] Olsen, N. S., and H. A. Schroeder: Proc. Soc. Exper. Biol. a. Med. **74**, 581 (1950) [A 28, D 28]. — [11] Page, E. W., E. Ogden and E. Anderson: Amer. J. Physiol. **147**, 471 (1946) [K 8]. — [12] Page, I. H.: Amer. J. Physiol. **134**, 789 (1941) [A 26, D 26]. — [13] Page, I. H., and J. W. McCubbin: Circulation (New York) **5**, 390 (1952) [A 28]. — [14] Page, I. H., and J. W. McCubbin: Amer. J. Physiol. **184**, 265 (1956) [A 29, D 29]. — [15] Page, I. H., and B. D. Taylor: Amer. J. Physiol. **156**, 412 (1950) [D 1]. — [16] Salmoiraghi, G. C., and J. W. McCubbin: Circulation Res. **2**, 280 (1954) [A 61, A 62]. — [17] Silva, V., and H. Croxatto: Rev. canad. de Biol. **11**, 122 (1952) [A 61, G 61]. — [18] Sugiura, H. T.: Anat. Rec. **118**, 561 (1954).

2. Hämodynamik

[19] Böger, A., B. Deppe u. K. Wezler: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **189**, 480 (1938). — [20] Broemser, Ph.: Z. Kreislaufforsch. **27**, 359 (1934). — [21] Broemser, Ph.: Lehrbuch der Physiologie (Kreislauf). Leipzig: Georg Thieme 1938. — [22] Broemser, Ph.: Z. Biol. **90**, 567 (1930). — [23] Green, D. H.: Medical Physics **2**, Chicago 1950. — [24] Heymans, C. et al.: Le sinus carotidien. Paris: G. Doin 1933. — [25] Koch, E.: Die reflektorische Selbststeuerung des Kreislaufes. Dresden: Theodor Steinkopff 1931. — [26] Meessen, H.: Verh. Dtsch. Ges. Pathol. 232 (1951). — [27] Montagnani, C. A.: S. Afric. J. Sci. **48**, 158 (1952). — [28] Wezler, K.: Z. Biol. **98**, 438 (1938). — [29] Wezler, K., u. A. Böger: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **152**, 254 (1939). — [30] Wezler, K., u. A. Böger: Erg. Physiol. **41**, 292 (1939). —

B. Hypertones Tier

1. Blutdruckmeßmethoden

[31] Ablondi, F., Y. SubbaRow, L. Lipchuck, G. Personeus and P. River: J. Labor. a. Clin. Med. **32**, 1099 (1947). — [32] Brecht, K., u. H. Boucke: Klin. Wschr. **1953**, 1051. — [33] Brendel, W., u. E. Koppermann: Pflügers Arch. **258**, 121 (1953). — [34] Breuninger, H.: Arzneimittelforsch. **6**, 222 (1956). — [35] Byrom, F. B., and C. Wilson: J. of Physiol. **93**, 301 (1938). — [36] Dawes, G. S., J. C. Mott and J. R. Vane: J. of Physiol. **121**, 72 (1953). — [37] Gallagher, D. J., and L. H. Grimwood: J. of Physiol. **121**, 163 (1953). — [38] Heymann, W., and M. Salehar: Proc. Soc. Exper. Biol. a. Med. **72**, 191 (1949). — [39] Kersten, H., W. G. Brosene, F. Ablondi and Y. SubbaRow: J. Labor. a. Clin. Med. **32**, 1090 (1947). — [40] Lawson, H. C., W. F. Cantrell, J. E. Shaw, D. L. Blackburn and S. Adams: Amer. J. Physiol. **170**, 277 (1952). — [41] Lehman, R. A.: Proc. Soc. Exper. Biol. a. Med.

84, 141 (1953). — [42] Marquardt, P., u. G. Hildebrand: Z. exper. Med. 118, 294 (1952). — [43] Proosdij-Hartzema, E. G. van: Acta physiol. et pharmacol. Neerl. (Amsterd.) 3, 472 (1954). — [44] Rodbard, S.: Federat. Proc. 12, 117 (1953). — [45] Schroeder, W.: Arch. Kreislaufforsch. 15, 24 (1949). — [46] Still, J. W., S. Pradha and E. Whitcomb: J. Appl. Physiol. 8, 575 (1956). — [47] Wilhelmj, C. M., E. B. Waldmann and T. McCuire: Amer. J. Physiol. 166, 296 (1951). — [48] Williams, J. R. jr., T. R. Harrison and A. Grollman: J. Clin. Invest. 18, 373 (1939).

2. Hämodynamik

[49] Bazett, H. C.: Factors regulating blood pressure. Transact. 3rd Conf. Josiah Macy, Jr. Found., New York 1950, p. 53. — [50] Böger, A., u. K. Wezler: Klin. Wschr. 1939, 401. — [51] Daniel, P. M., M. Prichard and J. N. Ward-McQuaid: J. of Physiol. 124, 106 (1954). — [52] Daniel, P. M., M. Prichard, M. L. Marj and J. N. Ward-McQuaid: Brit. J. Surg. 42, 81 (1954). — [53] Forster, R. P., and J. P. Maes: Amer. J. Physiol. 150, 534 (1947). — [54] Heymans, C.: Surgery (St. Louis) 4, 487 (1938). — [55] Heymans, C.: New England J. Med. 219, 154 (1938). — [56] Heymans, C.: Hypertension. Ciba Found. Symp., London 1954, p. 31. — [57] Holman, D. V., and I. H. Page: Amer. Heart J. 16, 321 (1938). — [58] Miterev, J. G.: Ter. Arch. 25, 29 (1953). — [59] Page, I. H.: Bull. New York Acad. Med. 28, 131 (1952). — [60] Page, I. H.: Pennsylv. Med. J. 55, 737 (1952). — [61] Page, I. H., and A. C. Corcoran: Arterial hypertension. Chicago: Year Book Publ. 1945. — [62] Raab, W.: Amer. Heart J. 24, 365 (1942). — [63] Raab, W., R. J. Humphreys and E. Lepeschkin: J. Clin. Invest. 29, 1397 (1950) [G 63]. — [64] Smith, H. W., W. Goldring, H. Chasis and H. A. Ranges: Amer. J. Physiol. 123, 189 (1938). — [65] Swann, H. G., J. M. Prine, V. Moore and R. D. Rice: J. of Exper. Med. 96, 281 (1952). — [66] Wezler, K., u. A. Böger: Med. Klin. 1937, 1628. — [67] Williams, A., and E. Edinger: Amer. J. Physiol. 163, 761 (1950).

3. Auslösung und Beeinflussung durch körpereigene Maßnahmen [akut, chronisch]

a) neurogen (auditiv, Blutdruckzügler usw.).

[68] Cicardo, V. H.: Rev. Soc. Argent. Biol. 28, 48 (1952). — [69] Crandall, E., and G. E. Wakerlin: Federat. Proc. 15, 42 (1956). — [70] Dixon, W. E., u. H. Heller: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. 166, 265 (1932). — [71] Farris, E. J., E. H. Yeakel and H. S. Medoff: Amer. J. Physiol. 144, 331 (1945). — [72] Fishback, H. R., F. R. Dutra and E. T. McCanny: J. Labor. a. Clin. Med. 28, 1187 (1943). — [73] Grimson, K. S.: Proc. Soc. Exper. Biol. a. Med. 44, 219 (1940). — [74] Grimson, K. S.: Arch. Surg. 43, 284 (1941). — [75] Grimson, K. S., J. J. Bouckeart and C. Heymans: Proc. Soc. Exper. Biol. a. Med. 42, 225 (1939). — [76] Grimson, K. S., C. E. Kernodle and H. C. Hill: J. Amer. Med. Assoc. 126, 218 (1944). — [77] Händel, M., P. Kertai, K. Weisz u. J. Balkanyi: Acta physiol. (Budapest) 4, 315 (1953). — [78] Heller, H.: Klin. Wschr. 1934, 241. — [79] Heymans, C., u. J. J. Bouckeart: Erg. Physiol. 41, 28 (1939). — [80] Introzzi, A. S., Proc. Staff Meet. Mayo Clin. 14, 74 (1939). — [81] Medoff, H. S., and A. M. Bongiovanni: Amer. J. Physiol. 143, 300 (1945). — [82] Morin, G., R. Naquet et G. F. Ricci: C. r. Soc. Biol. (Paris) 148, 1106 (1954). — [83] Rosenfeld, S.: Amer. J. Physiol. 169, 733 (1952). — [84] Rothlin, E., A. Cerletti u. H. Emmenegger: Proc. IIIrd Internat. Congr. Int. Med., Stockholm 1954. — [85] Rothlin, E., H. Emmenegger u. A. Cerletti: Helvet. physiol. Acta 11, C 25 (1953). — [86] Rothman, S.: Amer. J. Physiol. 180, 61 (1955). — [87] Schafer, P. W.: Proc. Soc. Exper. Biol. a. Med. 49, 327 (1942). — [88] Walker, A. C., K. M. Browne and J. D. McQueen: Proc. Soc. Exper. Biol. a. Med. 85, 474 (1954). — [89] Yeakel, E. H., H. A. Shenkin, A. B. Rothballer and S. M. D. Cann: Amer. J. Physiol. 155, 118 (1948).

b) renal

[90] Abrams, M., and S. Sobin: Proc. Soc. Exper. Biol. a. Med. **64**, 412 (1947) [T 1]. — [91] Alpert, L. K., A. S. Alving and H. S. Grimson: Proc. Soc. Exper. Biol. a. Med. **37**, 1 (1937) [D 24]. — [92] Bächtold, H. P.: Inaug. Diss. Basel 1950 [W 14]. — [93] Blacket, R. B., and A. L. Sellers: Clin. Sci. **10**, 177 (1951) [K 1]. — [94] Blacket, R. B., G. W. Pickering and G. M. Wilson: Clin. Sci. **9**, 247 (1950). — [95] Blacket, R. B., A. Depoorter, G. W. Pickering, A. L. Sellers and G. M. Wilson: Clin. Sci. **9**, 223 (1950) [A 26]. [96] Braude, A. I., A. P. Shapiro and J. Siemienski: J. Clin. Invest. **34**, 1489 (1955). — [97] Braun-Menendez, E.: Rev. Soc. argent. Biol. **30**, 138 (1954) [K 13, K 14]. — [98] Braun-Menendez, E.: C. r. Soc. Biol. (Paris) **148**, 1663 (1954) [K 13, K 14]. — [99] Braun-Menendez, E., et M. R. Covian: C. r. Soc. Biol. (Paris) **142**, 1569 (1942) [S 1]. — [100] Braun-Menendez, E., and U. S. v. Euler: Nature (Lond.) **160**, 905 (1947) [S 1]. — [101] Brown, G. M., and B. G. Maegraith: J. of Physiol. **99**, 304 (1941) [K 10]. — [102] Burus, R. O., and G. E. Wakerlin: Circulation Res. **1**, 454 (1953) [D 27]. — [103] Collins, D.: Amer. J. Physiol. **116**, 616 (1936) [D 1]. — [104] Covian, M. R.: Rev. Soc. Argent. Biol. **28**, 47 (1952) [U 1]. — [105] Dammin, G. J., M. L. Goldman, H. A. Schroeder and M. G. Pace: Labor. Invest. **5**, 72 (1956) [D 1]. — [106] Danford, H. G., and R. C. Herrin: Amer. J. Physiol. **171**, 412 (1952) [K 33]. — [107] Daniel, P. M., M. Prichard and J. N. Ward-McQuaid: Clin. Sci. **13**, 247 (1954) [M 1, H 1]. — [108] Davis, L., and C. A. Tanturi: Arch. Surg. **62**, 325 (1951) [D 19]. — [109] Dell'Oro, R.: Rev. Med. y Aliment. **18**, 13 (1942) [K 2, D 2, P 2]. — [110] Drury, D. R., and J. Flasher: Amer. J. Physiol. **164**, 630 (1951) [A 26]. — [111] Eger, W., u. C. Brennecke: Z. exper. Med. **124**, 407 (1954) [A 15, U 15, a 15, A 16, E 16]. — [112] Flasher, J., and D. R. Drury: Amer. J. Physiol. **158**, 438 (1949) [L 1, O 1, Q 1]. — [113] Flasher, J., and D. R. Drury: Amer. J. Physiol. **162**, 385 (1950). — [114] Flasher, J., H. A. Edmondson and D. R. Drury: Arch. of Pathol. **51**, 53 (1951) [L 1, H 1]. — [115] Fleming, H. A.: J. of Path. **65**, 441 (1953) [L 1, S 1, H 1]. — [116] Floyer, M. A.: Clin. Sci. **10**, 405 (1951) [K 1, N 1, M 1]. — [117] Floyer, M. A.: Brit. Med. Bull. **13**, 29 (1957) [Q 1, R 1, S 1]. — [118] Frank, M. H., L. Graham and G. E. Wakerlin: Federat. Proc. **15**, 66 (1956) [D 26]. — [119] Frieden, J., J. Stamler, W. Hwang, K. Kuramato and L. N. Katz: Amer. J. Physiol. **168**, 501 (1952) [D 33, A 33]. — [120] Friedman, B., J. Jarman and P. Klemperer: Amer. J. Med. Sci. **202**, 20 (1941) [L 1]. — [121] Friedman, M.: Amer. J. Physiol. **167**, 457 (1951) [P 35]. — [122] Friedman, S. M., and C. L. Friedman: J. of Exper. Med. **89**, 631 (1949) [G 40, G 65]. — [123] Friedman, S. M., M. Nakashima and C. L. Friedman: Amer. J. Physiol. **179**, 165 (1954) [G 52]. — [124] Friedman, S. M., C. L. Friedman and M. Nakashima: Amer. J. Physiol. **180**, 469 (1955) [P 10]. — [125] Gibson, J., and R. W. Robinson: Proc. Soc. Exper. Biol. a. Med. **39**, 497 (1938) [D 1]. — [126] Glenn, F., and E. P. Lasher: Proc. Soc. Exper. Biol. a. Med. **38**, 158 (1938) [D 13]. — [127] Goldblatt, H.: Bull. Acad. Med. Cleveland **16**, 6 (1932) [D 1]. — [128] Goldblatt, H.: Ann. Int. Med. **11**, 69 (1937) [D 3, E 1]. — [129] Goldblatt, H.: J. of Exper. Med. **67**, 809 (1938). — [130] Goldblatt, H., and J. R. Kahn: J. Amer. Med. Assoc. **110**, 686 (1938) [D 1]. — [131] Goldblatt, H., J. R. Kahn and R. F. Hanzal: J. of Exper. Med. **69**, 649 (1939). — [132] Goldblatt H., J. R. Kahn and A. Lewis: J. Amer. Med. Assoc. **119**, 1192 (1942) [D 33]. — [133] Goldblatt, H., S. Braden, J. R. Kahn and W. A. Hoyt: J. Mt. Sinai Hosp. **8**, 579 (1942) [D 8]. — [134] Goldblatt, H., J. Lynch, R. F. Hanzal and W. Summerville: J. of Exper. Med. **59**, 347 (1934) [D 1]. — [135] Gordon, D. B., D. R. Drury and S. Schapiro: Amer. J. Physiol. **175**, 123 (1953) [P 61]. — [136] Green, D. M., F. M. Sturtevant and C. G. van Arman: Federat. Proc. **12**, 56 (1953) [T 1]. — [137] Grollman, A.: Amer. J. Physiol. **142**, 666 (1944) [K 1, L 1, S 1, P 1, J 1]. — [138] Grollman, A.: Amer. J. Physiol. **147**, 647 (1946) [K 1, D 33]. — [139] Grollman,

A.: Proc. Soc. Exper. Biol. a. Med. **57**, **102** (1944). — [140] GROLLMAN, A., and T. R. HARRISON: J. Pharmacol. a. Exper. Ther. **78**, 174 (1943) [K 25]. — [141] GROLLMAN, A., and C. RULE: Amer. J. Physiol. **138**, 587 (1943) [P 1]. — [142] GROLLMAN, A., T. R. HARRISON and J. R. WILLIAMS: Amer. J. Physiol. **139**, 293 (1943) [J 1]. — [143] GROLLMAN, A., E. E. MUIRHEAD and J. VANATTA: Amer. J. Physiol. **157**, 21 (1949) [S 1, S 25]. — [144] GROSS, F., u. F. SULSER: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **229**, 338 (1956) [S 25, S 26]. — [145] HANDLER, P., and F. BERNHEIM: Amer. J. Physiol. **160**, 31 (1950) [P 38, P 37, P 33]. — [146] HANDLER, P., and F. BERNHEIM: Amer. J. Physiol. **166**, 528 (1951) [S 9, A 9, O 9]. — [147] HARRISON, T. R., A. GROLLMAN and J. R. WILLIAMS: Amer. J. Physiol. **128**, 716 (1939). — [148] HAWTHORNE, E. W., and G. E. WAKERLIN: Amer. J. Physiol. **177**, 341 (1954) [D 1]. — [149] HAWTHORNE, E. W., S. L. C. PERRY and G. POGUE: Amer. J. Physiol. **174**, 393 (1953) [K 1]. — [150] HELMER, D. M., and R. E. SHIPLEY: Amer. J. Physiol. **150**, 353 (1947) [S 25, A 25]. — [151] HILDEBRAND, G., Z. exper. Med. **113**, 645 (1944) [D 1]. — [152] HOUCK, C. R.: Amer. J. Physiol. **176**, 175 (1954) [S 33]. — [153] HOUCK, C. R.: Amer. J. Physiol. **176**, 183 (1954) [S 31, S 32]. — [154] HOUCK, C. R.: Amer. J. Physiol. **177**, 531 (1954) [S 23]. — [155] HOUCK, C. R.: Federat. Proc. **15**, 96 (1956) [S 24]. — [156] HOUSSAY, B. A., et J. C. FASCIOLO: C. r. Soc. Biol. (Paris) **127**, 147 (1938) [G 1]. — [157] JAQUES, D. A., R. B. MCVAUGH, W. F. KEITZER and P. A. RONDELL: Federat. Proc. **15**, 101 (1956) [A 11, S 11]. — [158] KEZDI, P.: Circulation (New York) **12**, 732 (1955) [D 1, K 1]. — [159] KNOWLTON, A. I., E. N. LOEB, H. C. STOERK and B. C. SEEGAL: Proc. Soc. Exper. Biol. a. Med. **72**, 722 (1949). — [160] KNOWLTON, A. I., H. C. STOERK, B. C. SEEGAL and E. N. LOEB: Endocrinology (Springfield, Ill.) **38**, 315 (1946). — [161] KOLFF, W. J., and I. H. PAGE: Circulation Res. **2**, 381 (1954) [S 1]. — [162] KOLFF, W. J., and I. H. PAGE: Amer. J. Physiol. **178**, 69 (1954) [S 1, S 38]. — [163] KOLFF, W. J., and I. H. PAGE: Amer. J. Physiol. **178**, 75 (1954) [S 25, S 32]. — [164] KOLFF, W. J., and I. H. PAGE: Amer. J. Physiol. **181**, 580 (1955) [S 38]. — [165] KOLFF, W. J., and I. H. PAGE: Amer. J. Physiol. **182**, 531 (1955) [W 1]. — [166] KOLFF, W. J., and I. H. PAGE: Amer. J. Physiol. **181**, 575 (1955) [S 26]. — [167] KREMEN, S. H., and G. E. WAKERLIN: Proc. Soc. Exper. Biol. a. Med. **90**, 99 (1955) [D 26]. — [168] KUPERMAN, J., and G. E. WAKERLIN: Federat. Proc. **12**, 80 (1953) [D 26]. — [169] LANGFORD, H., J. R. SNAVELY and D. TURNER: Clin. Res. Proc. **5**, 98 (1957) [S 4]. — [170] LANZA, G., G. SCEBBA e G. SCILLAMA: Riforma med. **65**, 260 (1951). — [171] LEDINGHAM, J. M.: Clin. Sci. **10**, 423 (1951). — [172] LENEL, R., L. N. KATZ and S. RODBARD: Amer. J. Physiol. **152**, 557 (1948). — [173] LEONARDS, J. R., and C. R. HEISLER: Amer. J. Physiol. **167**, 553 (1951) [S 1]. — [174] LEONARDS, J. R., and C. R. HEISLER: Federat. Proc. **11**, 247 (1952). — [175] LEWIS, L. A., and I. H. PAGE: Amer. J. Physiol. **173**, 359 (1953) [D 1]. — [176] LOOMIS, D.: Arch. of Path. **41**, 231 (1946). — [177] MCCUBBIN, J. W., and I. H. PAGE: Circulation (New York) **5**, 397 (1952) [D 13]. — [178] MCCUBBIN, J. W., and I. H. PAGE: Circulation Res. **2**, 35 (1954) [S 26, S 27, S 28, S 29, S 10]. — [179] MARION, P., G. GREGOIRE, H. TERMET et R. DELENGE: Lyon Méd. **186**, 377 (1952) [D 19]. — [180] MASSON, G. M. C.: Federat. Proc. **12**, 94 (1953) [I 40, I 61]. — [181] MASSON, G. M. C.: Federat. Proc. **13**, 95 (1954) [S 26, P 61, G 61]. — [182] MASSON, G. M. C.: A. C. CORCORAN, I. H. PAGE and F. DELGRECO: Proc. Soc. Exper. Biol. a. Med. **84**, 284 (1953) [G 62]. — [183] MASSON, G. M. C., G. PLAHL, A. C. CORCORAN and I. H. PAGE: Arch. of Path. **55**, 85 (1953) [M 70—74]. — [184] MASUGI, M., u. Y. SATO: Virchows Arch. **293**, 615 (1934). — [185] MEIER, R., u. F. ZBINDEN: Experientia (Basel) **2**, 259 (1946) [T 1]. — [186] MIDDLEWORTH, L. VAN, and J. T. TRUEMPER: Federat. Proc. **12**, 147 (1953) [D 2]. — [187] MOSES, C.: Proc. Soc. Exper. Biol. a. Med. **85**, 590 (1954). — [188] MUIRHEAD, E. E.: South. Med. J. **47**, 110 (1954) [S 33, S 38, S 34]. — [189] MUIRHEAD, E. E.: Federat. Proc. **15**, 525 (1956) [S 1, S 38]. — [190] MUIRHEAD, E. E.,

M. E. Fogelman, F. Jones and P. Graham: Federat. Proc. **12**, 397 (1953) [S 1, S 33]. — [191] Ogden, E., E. W. Page and E. Anderson: Amer. J. Physiol. **141**, 389 (1944). — [192] Orbison, J. L., C. L. Christian and E. Peters: Arch. of Path. **54**, 185 (1952). — [193] Page, I. H.: Science (Lancaster, Pa.) **89**, 273 (1939). — [194] Page, I. H.: Amer. J. Physiol. **122**, 352 (1938) [D 2]. — [195] Page, I. H.: J. Amer. Med. Assoc. **113**, 2046 (1939) [V 1, T 2]. — [196] Page, I. H., and L. A. Lewis: Amer. J. Physiol. **164**, 61 (1951) [D 2, A 2]. — [197] Page, I. H., and J. W. McCubbin: Amer. J. Physiol. **168**, 208 (1952). — [198] Page, I. H., and J. E. Sweet: Amer. J. Physiol. **120**, 238 (1937). — [199] Page, I. H., and J. E. Sweet: Proc. Soc. Exper. Biol. a. Med. **34**, 260 (1936) [D 8]. — [200] Patton, H. S., E. W. Page and E. Ogden: Surg. Gyn. Obstetr. **76**, 493 (1943). — [201] Pellegrini, G.: Sci. med. ital. **2**, 404 (1951) [K 13, K 21]. — [202] Pickering, G. W.: Clin. Sci. **5**, 229 (1945) [K 1, P 1]. — [203] Pickering, G. W.: Circulation (New York) **6**, 599 (1952) [D 1]. — [204] Pickering, G. W., and M. Prinzmetal: Clin. Sci. **3**, 357 (1938). — [205] Pickering, G. W., M. Prinzmetal and A. R. Kelsall: Clin. Sci. **4**, 401 (1942) [K 1]. — [206] Rather, J. H.: Proc. Soc. Exper. Biol. a. Med. **77**, 651 (1951) [P 9]. — [207] Rather, J. H.: Endocrinology (Springfield, Ill.) **50**, 562 (1952) [P 1, P 3]. — [208] Rodbard, S., and S. C. Freed: Endocrinology (Springfield, Ill.) **30**, 365 (1942) [K 4]. — [209] Rodbard, S., and L. N. Katz: Amer. J. Med. Sci. **198**, 602 (1939) [A 1]. — [210] Rosenman, R. H., S. C. Freed and S. St. George: Circulation Res. **4**, 57 (1956) [E 67]. — [211] Schapiro, S.: Amer. J. Physiol. **179**, 670 (1954) [P 1, P 26]. — [212] Schapiro, S., D. S. Gordon and D. R. Drury: Amer. J. Physiol. **185**, 543 (1956) [A 26]. — [213] Schroeder, H. A., and H. L. Goldman: Circulation (New York) **5**, 730 (1952) [K 1]. — [214] Scott, H. W. jr., and H. T. Bahnson: Surgery (St. Louis) **30**, 206 (1951). — [215] Selye, H.: Nature (Lond.) **158**, 131 (1946). — [216] Selye, H., and H. Stone: J. of Urol. **56**, 399 (1946). — [217] Sevy, R. W., and G. E. Wakerlin: Amer. J. Physiol. **272**, 129 (1953) [D 9, D 10]. — [218] Spitznagel, J. K., and H. A. Schroeder: Proc. Soc. Exper. Biol. a. Med. **64**, 412 (1947). — [219] Tabor, C. W., L. L. Ashburn and S. M. Rosenthal: Federat. Proc. **15**, 490 (1956). — [220] Taggart, J., and D. R. Drury: J. of exper. Med. **71**, 857 (1940) [K 26]. — [221] Tobian, L.: J. Clin. Invest. **29**, 849 (1950) [S 1, S 4, S 2]. — [222] Turner, L. B., and A. Grollman: Amer. J. Physiol. **167**, 462 (1951) [S 2]. — [223] Vanatta, J. C., J. Danhof and M. McMullen: Amer. J. Physiol. **185**, 167 (1956) [S 28]. — [224] Verney, E. B., and M. Vogt: Quart. J. Exper. Physiol. **28**, 253 (1938) [D 27]. — [225] Wakerlin, G. E.: Physiologic. Rev. **35**, 555 (1955) [K 15, K 17, K 18]. — [226] Wakerlin, G. E., and W. Gaines Amer., J. Physiol. **130**, 568 (1940) [D 22]. — [227] Wakerlin, G. E., and C. A. Johnson: Proc. Soc. Exper. Biol. a. Med. **46**, 104 (1941) [D 26]. — [228] Wakerlin, G. E., C. A. Johnson, W. G. Moss and M. L. Goldberg: J. Pharmacol. a. Exper. Ther. **81**, 101 (1944) [D 26, D 20]. — [229] Wakerlin, G. E., S. Kremen, M. H. Frank, H. E. Schmid and L. Graham: Circulation Res. **2**, 201 (1954) [A 26]. — [230] Wakerlin, G. E., R. B. Bird, B. B. Brennan, M. H. Frank, S. Kremen, J. Kuperman and F. H. Skom: J. Labor. a. Clin. Med. **41**, 708 (1953) [D 26]. — [231] Waser, R., u. R. Keller: Helvet. physiol. Acta **12**, C 94 (1954) [U 30, G 64]. — [232] Wastl, H.: Arch. internat. Pharmacodynamie **71**, 204 (1945) [D 13]. — [233] Williams, W., C. Whisnant and W. T. Fills: Amer. J. Physiol. **170**, 57 (1952) [D 2]. — [234] Wilson, C.: Lancet **265**, 579 (1953) [P 1, P 2, Q 2, Q 1, R 1, S 1]. — [235] Wilson, C.: Lancet **265**, 632 (1953) [L 1]. — [236] Wilson, C., and F. B. Byron: Quart. J. Med. **10**, 65 (1941) [L 1]. — [237] Zbinden, F.: Helvet. physiol. Acta **4**, 513 (1946). — [238] Zollinger, H. U.: Schweiz. Z. Path. **14**, 366 (1952).

c) endokrin

[239] Allardyce, J., J. Salter and R. Rixon: Amer. J. Physiol. **164**, 68 (1951). — [240] Anderson, E., E. W. Page, C. H. Li and E. Ogden: Amer. J. Physiol. **141**, 393

(1944) [K 9]. — [241] Bergeron, G. A.: Laval Méd. **20**, 4 (1955) [G 51]. — [242] Beznak, M.: J. of Physiol. **116**, 74 (1952) [A 11]. — [243] Braun-Menendez, E., y V. G. Foglia: Rec. Soc. argent. Biol. **20**, 556 (1944) [G 50]. — [244] Braun-Menendez, E., y J. L. Prado: Rev. Soc. argent. Biol. **26**, 188 (1950). — [245] Briskin, H. L.: Amer. J. Physiol. **138**, 385 (1943). — [246] Cier, J. F., et Y. Houdas: Presse Méd. **1954**, 1209. — [247] Croxatto, H., F. Monckeberg, S. Jarpa y V. Silva: Bol. Soc. Biol. **10**, 34 (1953) [G 61, G 62, G 63]. — [248] Deane, H. W., and G. M. C. Masson: J. Clin. Endocrinol. **11**, 193 (1951). — [249] Dontigny, P., E. C. Hay, J. L. Prado and H. Selye: Amer. J. Med. Sci. **215**, 442 (1948). — [250] Freed, S. C., M. Friedman and R. H. Rosenman: Proc. Soc. Exper. Biol. a. Med. **77**, 732 (1951). — [251] Freed, S. C., R. H. Rosenman, S. St. George and M. K. Smith: Circulation Res. **2**, 41 (1954) [A 35]. — [252] Friedman, S. M.: J. of Exper. Med. **93**, 361 (1951) [L 40]. — [253] Friedman, S. M.: J. Gerontol. **6**, Suppl. z. Nr. 3, 89 (1951). — [254] Friedman, S. M., and C. L. Friedman: Canad. Med. Assoc. J. **61**, 596 (1949) [L 40]. — [255] Friedman, S. M., and C. L. Friedman: Amer. J. Physiol. **153**, 226 (1948) [P 40, P 42]. — [256] Friedman, S. M., and C. L. Friedman: Endocrinology (Springfield, Ill.) **49**, 318 (1951) [L 40]. — [257] Friedman, S. M., C. L. Friedman and C. G. Campbell: Amer. J. Physiol. **157**, 241 (1949) [G 41]. — [258] Friedman, S. M., C. L. Friedman and M. Nakashima: Amer. J. Physiol. **170**, 270 (1952) [G 52]. — [259] Friedman S. M., C. L. Friedman and M. Nakashima: Amer. J. Physiol. **163**, 319 (1950) [G 52]. — [260] Friedman, S. M., C. L. Friedman and M. Nakashima: Endocrinology (Springfield, Ill.) **53**, 633 (1953). — [261] Friedman, S. M., C. L. Friedman and M. Nakashima: Endocrinology (Springfield, Ill.) **51**, 401 (1951) [D 1, E 1]. — [262] Friedman, S. M., C. L. Friedman and M. Nakashima: Amer. J. Physiol. **176**, 120 (1954) [G 52]. — [263] Friedman, S. M., M. Nakashima and C. L. Friedman: Canad. J. Biochem. Physiol. **32**, 200 (1954) [G 53]. — [264] Gaunt, R., G. J. Ulsamer et J. J. Chart: Arch. internat. Pharmacodynamie **110**, 114 (1957). — [265] Grandpré, R. de, P. Dontigny and J. Leclerc: Rev. canad. de Biol. **9**, 100 (1950) [P 38]. — [266] Green, D. M.: Ann. Int. Med. **39**, 333 (1953). — [267] Green, D. M., and M. Glover: Federat. Proc. **7**, 224 (1948) [G 40]. — [268] Green, D. M., D. H. Coleman and M. McCabe: Amer. J. Physiol. **154**, 465 (1948) [G 40]. — [269] Green, D. M., R. L. Craig, F. J. Saunders and F. M. Sturtevant: Amer. J. Physiol. **170**, 477 (1952) [G 65, G 43, L 65]. — [270] Green, D. M., F. J. Saunders, N. Wahlgren and R. L. Craig: Amer. J. Physiol. **170**, 94 (1952) [L 40, L 42, L 46, L 55, L 57, L 59, L 43, L 45]. — [271] Green, D. M., F. J. Saunders, C. G. van Arman, L. D. Calvin and F. M. Sturtevant: Amer. J. Physiol. **170**, 486 (1952) [G 40]. — [272] Green, D. M., F. J. Saunders, N. Wahlgren, F. J. McDonough and J. M. Clampit: Amer. J. Physiol. **170**, 107 (1952) [L 50, L 51]. — [273] Gross, F.: Arch. internat. Pharmacodynamie **81**, 211 (1950). — [274] Gross, F., u. F. Sulser: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **229**, 381 (1956) [G 40, G 46]. — [275] Gross, F., P. Loustalot u. R. Meier: Experientia (Basel) **11**, 67 (1955) [G 41]. — [276] Gross, F., P. Loustalot u. R. Meier: Actaendocrin., im Druck. — [277] Hall, C. E., and O. Hall: Proc. Soc. Exper. Biol. a. Med. **71**, 690 (1949) [G 65]. — [278] Hall, C. E., P. Dontigny, E. Beland and H. Selye: Endocrinology (Springfield, Ill.) **38**, 296 (1946) [G 53]. — [279] Handler, P., D. V. Cohn, and W. J. A. de Maria: Amer. J. Physiol. **165**, 434 (1951) [A 16, S 16]. — [280] Knowlton, A. I., E. N. Loeb, H. C. Stoerk and W. C. Mohler: J. Clin. Invest. **32**, 1175 (1953). — [281] Knowlton, A. I., E. N. Loeb, H. C. Stoerk, J. P. White and J. F. Heffernan: J. of Exper. Med. **96**, 187 (1952) [L 40, I 40, G 40, C 40, L 41, C 41]. — [282] Kuhlman, D., C. Ragan, J. W. Ferrebee, D. W. Atchley and R. F. Loeb: Science (Lancaster, Pa.) **90**, 496 (1939) [G 40]. — [283] Kumar, D., A. E. D. Hall, R. Nakashima and A. G. Cornall: Canad. J. Biochem. Physiol. **35**, 113 (1957) [G 40, K 40]. — [284] Leathem, J. H., and V. A. Drill:

Endocrinology (Springfield, Ill.) **35**, 112 (1944) [A 1, A 2]. — [285] Lehr, D., and C. R. Martin: Endocrinology (Springfield, Ill.) **59**, 273 (1956) [G 57]. — [286] Lehr, D., u. C. R. Martin: XX. Internat. Physiol. Congr. 1956, p. 555 [G 58]. — [287] Lehr, D., and C. R. Martin: Proc. Soc. Exper. Biol. a. Med. **93**, 596 (1956) [G 58]. — [288] Lehr, D. C., C. R. Martin and R. Milora: Federat. Proc. **15**, 451 (1956) [G 57]. — [289] Lewis, L. A., and I. H. Page: J. Clin. Endocrin. **10**, 819 (1950). — [290] Luft, R., u. B. Sjöcren: Acta endocrinol. (Copenh.) **3**, 56 (1949) [G 40]. — [291] Masson, G. M. C., and A. C. Corcoran: Methods in medical research. Vol. 5, Chicago 1952, p.261. — [291a] Masson, G. M. C., A. Lewis, A. C. Corcoran a. I. H. Page: J. clin. Endocrin. **13**, 300 (1953). — [292] Prado, J. L., P. Dontigny and H. Selye: Proc. Soc. Exper. Biol. a. Med. **66**, 446 (1947). — [293] Salgado, E.: Endocrinology (Springfield, Ill.) **55**, 377 (1954) [G 55]. — [294] Salgado, E.: J. Labor. a. Clin. Med. **45**, 865 (1955) [G 50]. — [295] Salgado, E., and D. M. Green: Amer. J. Physiol. **187**, 628 (1956). — [296] Salgado, E., and H. Selye: J. of Endocrin. **11**, 331 (1954) [M 55]. — [297] Salgado, E., and H. Selye: Endocrinology (Springfield, Ill.) **55**, 550 (1954) [M 40, M 41]. — [298] Sapeika, N.: Arch. internat. Pharmacodynamie **76**, 327 (1948) [G 60]. — [299] Saunders, F. J., F. J. McDonough, N. Wahlgren, and D. M. Green: Federat. Proc. **11**, 388 (1952) [G 50]. — [300] Selye, H.: Brit. Med. J. **1951/I**, 263 [G 53, G 70—74]. — [301] Selye: H.: Proc. Soc. Exper. Biol. a. Med. **76**, 510 (1951) [G 53]. — [302] Selye, H., and E. M. Rowley: Federat. Proc. **3**, 41 (1944) [G 60]. — [303] Selye, H., C. E. Hall and E. M. Rowley: Canad. Med. Assoc. J. **49**, 88 (1943) [G 40]. — [304] Skelton, F. R.: Proc. Soc. Exper. Biol. a. Med. **90**, 342 (1955) [B 70—74]. — [305] Skelton, F. R.: Federat. Proc. **16**, 372 (1957). — [306] Skelton, F. R.: J. Clin. Endocrin. **12**, 918 (1952). — [307] Skelton, F. R.: Federat. Proc. **14**, 419 (1955) [M 40]. — [308] Skelton, F. R.: Endocrinology (Springfield, Ill.) **55**, 288 (1954). — [309] Skelton, F. R.: Arch. Int. Med. **98**, 449 (1956) [L 42, L 40, L 50, L 65, L 46, K 70—74]. — [310] Skelton, F. R.: J. Clin. Endocrin. **16**, 919 (1956) [L 42]. — [311] Skelton, F. R.: Endocrinology (Springfield, Ill.) **53**, 492 (1953) [M 40, N 40]. — [312] Skelton, F. R., and J. Guillebeau: Endocrinology (Springfield, Ill.) **59**, 201 (1956) [B 42]. — [313] Skelton, F. R., and J. Guillebeau: Federat. Proc. **15**, 532 (1956) [B 42, B 50, B 65, B 46]. — [314] Stamler, J.: Circulation (New York) **10**, 896 (1954). — [315] Sturtevant, F. M.: Proc. Soc. Exper. Biol. a. Med. **93** 550 (1956) [L 60]. — [316] Sturtevant, F. M., and N. Hansen: J. Pharmacol. a. Exper. Ther. **112**, 312 (1954) [G 52]. — [317] Sulser, F.: Inaug. Diss. Basel 1955 [K 70—74, G 70—74]. — [318] Vanden-Bossche, M.: Ann. endocrinol. **10**, 276 (1949) [G 65]. — [318a] Verniory, A.: Archinternat. Pharmacodynamie **85**, 451 (1951).

d) diätetisch (Kochsalz)

[319] Abrams, M., A. De Friez, D. C. Tosteson and E. M. Landis: Amer. J. Physiol. **156**, 233 (1948). — [320] Allen, F. M., and O. M. Cope: J. of Urol. **47**, 751 (1942). — [321] Bois, P., u. H. Selye: Experientia (Basel) **12**, 144 (1956) [I 74—75]. — [322] Brandt, W. L., W. M. Dubin and L. A. Sapirstein: Amer. J. Physiol. **164**, 73 (1951) [P 41, P 46, P 65]. — [323] Durlacher, S. H., D. C. Darrow and M. C. Winternitz: Amer. J. Physiol. **136**, 346 (1942) [A 35]. — [324] Freed, S. C., and M. Friedman: Proc. Soc. Exper. Biol. a. Med. **78**, 74 (1951) [A 35]. — [325] Fregly, M. J.: Amer. J. Physiol. **182**, 139 (1955) [T 1]. — [326] Friedman, M., S. C. Freed and R. H. Rosenman: Circulation (New York) **5**, 415 (1952) [P 35]. — [327] Goormaghtigh, N., and H. Handovsky: Arch. of Path. **26**, 1144 (1938). — [328] Grollman A., and T. R. Harrison: Proc. Soc. Exper. Biol. a. Med. **60**, 52 (1945) [K 25]. — [329] Hartroft, W. S., and C. H. Best: Brit. Med. J. **1949/I**, 423 [G 75]. — [330] Martini, P., and K. Kaiser: Hypertension. p. 272. London: Ciba Found. Symp. 1954. — [331] Meneely, G. R., R. G. Tucker, W. J. Darby and S. H. Auerbach: J. of Exper.

Med. **98**, 71 (1953) [P 40]. — [332] Meneely, G. R., R. G. Tucker, W. J. Darby and S. H. Auerbach: Ann. Int. Med. **39**, 991 (1953). — [333] Moses, C., G. M. Longabaugh and R. S. George: Proc. Soc. Exper. Biol. a. Med. **75**, 660 (1950). — [334] Moses, C., G. M. Longabaugh and R. S. George: Amer. J. Physiol. **163**, 736 (1950). — [335] Olsen, N. S., and W. E. Martindale: Federat. Proc. **11**, 115 (1952). — [336] Raab, W., R. J. Humphreys, N. Makous, R. De Grandpré and W. Gigee: Circulation (New York) **6**, 373 (1952). — [337] Rosenman, R. H., S. C. Freed, S. St. George and M. K. Smith: Amer. J. Physiol. **175**, 386 (1953) [P 35]. — [338] Rosenman, R. H., S. C. Freed and M. K. Smith: Amer. J. Physiol. **177**, 325 (1954) [P 35, G 45]. — [339] Rosenman, R. H., S. C. Freed and M. Friedman: Proc. Soc. Exper. Biol. a. Med. **78**, 77 (1951). — [340] Roth, L. F., and J. Blair: Proc. Soc. Exper. Biol. a. Med. **94**, 619 (1957). — [341] Sapirstein, L. A., W. L. Brandt and D. R. Drury: Proc. Soc. Exper. Biol. a. Med. **73**, 82 (1950) [P 40]. — [342] Zollinger, H. U., A. Hauser, H. Fehlmann u. G. Curti: Schweiz. med. Wschr. **1954**, 1272 [P 40].

e) spontan

[343] Alexander, N. L., B. Hinshaw and D. R. Drury: Proc. Soc. Exper. Biol. a. Med. **92**, 249 (1956). — [344] Katz, J. I., J. H. Skom and G. E. Wakerlin: Circulation Res. **5**, 137 (1957). — [345] Skom, J. H., and G. E. Wakerlin: Amer. J. Physiol. **171**, 767 (1952).

C. Morphologisch-anatomisch-funktionelle Veränderungen

1. Allgemeine Veränderungen an Gefäßen, Herz, Niere und Bindegewebe

[346] Editorial: Lancet **271**, 931 (1956). — [347] Ashton, N., and C. Cook: Brit. J. Exper. Path. **33**, 445 (1952). — [348] Bein, H. J., P. Desaulles u. P. Loustalot: Experientia (Basel) **13**, 130 (1957) [N 70—71]. — [349] Bohle, A.: Arch. Kreislaufforsch. **20**, 193 (1954). — [350] Byrom, F. B.: Lancet **267**, 201 (1954) [P 75]. — [351] Dammin, G. J., M. L. Goldman, H. A. Schroeder and M. G. Pace: Amer. J. Pathol. **31**, 587 (1955). — [352] Friedman, S. M., C. L. Friedman and M. Nakashima: Endocrinology (Springfield, Ill.) **57**, 10 (1955). — [353] Gepts, W.: C. r. Soc. Biol. (Paris) **146**, 307 (1952) [M 70—77]. — [354] Gillman, J., and C. Gilbert: Brit. J. Exper. Path. **37**, 584 (1956). — [355] Goldblatt, H., J. R. Kahn and H. Louis: J. of Exper. Med. **77**, 297 (1943) [N 70—74]. — [356] Goormaghtigh, N.: Proc. Soc. Exper. Biol. a. Med. **42**, 688 (1939) [N/O 75]. — [357] Goormaghtigh, N., et W. Boels: Rev. belge Path. **22**, 194 (1952) [M 70—75]. — [358] Grandpré, R. de, and W. Raab: Circulation Res. **1**, 345 (1953). — [359] Green, D. M.: Amer. J. Physiol. **170**, 107 (1952) [Q 70—75]. — [360] Grollman, A., and B. Halpert: Proc. Soc. Exper. Biol. a. Med. **71**, 394 (1944) [Q 72—74]. — [361] Hall, O., C. E. Hall and E. Ogden: Amer. J. Physiol. **174**, 175 (1953) [P 72/G 72]. — [362] Halpert, B., and A. Grollman: Proc. Soc. Exper. Biol. a. Med. **62**, 273 (1946) [P 70—75]. — [363] Handovsky, H.: J. of Physiol. **90**, 62 P (1937). — [364] Hartroft, M. P., and W. S. Hartroft: J. of Exper. Med. **97**, 415 (1953) [G 75]. — [365] Hay, E. C., and P. Seguin: Amer. J. Physiol. **147**, 299 (1946). — [366] Herlant, M., u. P. S. Timiras: Acta anat. (Basel) **12**, 229 (1951) [G/I 75]. — [367] Hermann, H., F. Jourdan et J. Vial: Bull. Acad. Nat. Med. (Paris) **16/17**, 272 (1952). — [368] Hoff, E. C., J. F. Kell, N. Hastings, D. Sholes and H. Gray: J. of Neurophysiol. **14**, 317 (1951). — [369] Knowlton, A. I., E. N. Loeb, H. C. Stoerk and B. Seegal: J. of Exper. Med. **85**, 187 (1947) [G 70 bis 75]. — [370] Kumar, D., W. Anderson and A. G. Cornall: J. of Clin. Endocrin. **16**, 918 (1956) [D 70—75]. — [371] Loustalot, P.: Schweiz. med. Wschr. **1955**, 631. — [372] Magarey, F. R.: J. of Path. **83**, 125 (1957) [O 70—75]. — [373] Masson, G. M. C., A. C. Corcoran and I. H. Page: Federat. Proc. **10**, 90 (1951) [G 70—75]. — [374] Masson, G. M. C., A. C. Corcoran and I. H. Page: J. Labor. a. Clin. Med. **34**,

1416 (1949) [G 70—75]. — [375] Masson, G. M. C., A. C. Corcoran and I. H. Page: Arch. of Path. **53**, 217 (1952) [G 70—83]. — [376] Masson, G. M. C., A. C. Corcoran and I. H. Page: J. Labor. a. Clin. Med. **38**, 213 (1951) [G 70—83]. — [377] Masson, G. M. C., F. Del Greco, A. C. Corcoran and I. H. Page: Arch. of Path. **56**, 23 (1953) [I 70—75]. — [378] Masson, G. M. C., F. Del Greco, A. C. Corcoran and I. H. Page: Amer. J. Med. Sci. **226**, 296 (1953) [I 70—75]. — [379] Meier, R., u. P. Desaulles: Experientia (Basel) **13**, 197 (1957). — [380] Meier, R., y P. Desaulles: Rev. Ibér. Endocrinol. **18**, 565 (1956) [C 78]. — [381] Meneely, G. R., R. G. Tucker, W. J. Darby and S. H. Auerbach: Amer. J. Physiol. **171**, 750 (1952) [M 70—75]. — [382] Metzler, A. von: Arch. Kreislaufforsch. **18**, 359 (1952) [E 72]. — [383] Moses, C.: Circulation Res. **2**, 243 (1954) [N 70—75]. — [384] Muirhead, E. E., L. B. Turner and A. Grollman: Arch. of Path. **52**, 266 (1951) [P 70—75]. — [385] Muirhead, E. E., L. B. Turner and A. Grollman: Arch. of Path. **51**, 575 (1951). — [386] Muirhead, E. E., J. Vanatta and A. Grollman: Arch. of Path. **48**, 234 (1949). — [387] Nairn, R. C.: J. of Path. **66**, 457 (1953) [N 83]. — [388] Peschel, E., B. Black-Schaffer and C. Schlayer: Endocrinology (Springfield, Ill.) **48**, 399 (1951). — [389] Rona, G., N. Kerényi, E. Oblatt u. M. Bretan: Z. exper. Med. **128**, 87 (1956) [K 70—75]. — [390] Salgado, E., et H. Selye: Arch. internat. Physiol. **62**, 352 (1954) [K 70—75]. — [391] Salgado, E., and H. Selye: J. Clin. Endocrin. **12**, 974 (1952) [G 70]. — [392] Salgado, E., and H. Selye: Endocrinology (Springfield, Ill.) **55**, 356 (1954) [K 70—75]. — [393] Selye, H.: Canad. Med. Assoc. J. **47**, 515 (1942) [G 70—74]. — [394] Selye, H.: J. Clin. Endocrin. **15**, 384 (1955). — [395] Selye, H.: J. Clin. Endocrin. **6**, 117 (1946) [L 70—75]. — [396] Selye, H., and P. Bois: Endocrinology (Springfield, Ill.) **58**, 739 (1956) [G/I 75]. — [397] Selye, H., and P. Bois: Endocrinology (Springfield, Ill.) **59**, 646 (1956) [I 70—74]. — [398] Selye, H., and P. Bois: Canad. Med. Assoc. J. **75**, 720 (1956) [I 70—74]. — [399] Selye, H., and P. Bois: Brit. Med. J. **1957/I**, 183 [I 75]. — [400] Selye, H., and P. Bois: Proc. Soc. Exper. Biol. a. Med. **92**, 164 (1956) [G 70—74]. — [401] Selye, H., and C. E. Hall: Arch. of Path. **36**, 19 (1943) [G 70—74]. — [402] Selye, H., and C. E. Hall: Amer. Heart J. **27**, 338 (1944) [G 72—75]. — [403] Selye, H., and E. I. Pentz: Canad. Med. Assoc. J. **49**, 265 (1943). — [404] Selye, H., and H. Stone: Proc. Soc. Exper. Biol. a. Med. **52**, 190 (1943) [G 70—75]. — [405] Selye, H., J. Mingberg and E. M. Rowley: J. Pharmacol. a. Exper. Ther. **85**, 42 (1945) [M 70—75]. — [406] Selye, H., H. Stone, K. Nielsen and C. Leblonde: Canad. Med. Assoc. J. **52**, 571 (1945). — [407] Selye, H., H. Stone, P. S. Timiras and C. Schaffenburg: Amer. Heart J. **37**, 1009 (1949). — [408] Shapiro, A. P., and J. Melhado: Clin. Res. Proc. **5**, 99 (1957). — [409] Toussaint, Ch.: C. r. Soc. Biol. (Paris) **145**, 1427 (1951). — [410] Toussaint, Ch., R. Wolter et P. Sibille: Rev. belge Path. **23**, 83 (1953). — [410a] Wissler, R. W., R. F. Allen, R. H. Moy a. W. Bradford: Circulation **12**, 502 (1955). — [410b] Wissler, R. W., R. F. Allen, R. H. Moy a. W. Bradford: Federat. Proc. **15**, 539 (1956).

2. Endokrine Organe [Nebenniere, Hypophyse]

[411] Dawson, I. M. P.: J. of Path. **72**, 393 (1956) [76]. — [412] Eisenstein, A. B., and P. M. Hartroft: Endocrinology (Springfield, Ill.) **60**, 634 (1957) [G 77]. — [413] Friedman, S. M., J. A. M. Hinke and C. L. Friedman: Amer. J. Physiol. **186**, 529 (1956) [G 81]. — [414] Hartroft, P. M., and A. B. Eisenstein: Endocrinology (Springfield, Ill.) **60**, 641 (1957) [G 77]. — [415] Peschel, E., and G. J. Race: Amer. J. Path. **30**, 634 (1954) [76].

3. Elektrolyte und ECFV und ICFV

[416] Alexander, N. L.: Amer. J. Physiol. **179**, 614 (1954) [S 82—83]. — [417] Eichelberger, L.: J. of Exper. Med. **77**, 205 (1943) [83]. — [418] Friedman, S. M.: Rev.

canad. de Biol. **7**, 570 (1948) [O 85—87]. — [419] Green, D. M., T. B. Reynolds and R. Girerd: Amer. J. Physiol. **181**, 97 (1955) [C 84—87]. — [420] Grollman, A.: Circulation Res. **2**, 541 (1954) [84—87]. — [421] Grollman, A., and A. P. Shapiro: J. Clin. Invest. **32**, 312 (1953) [N 83]. — [422] Ledingham, J. M.: Clin. Sci. **12**, 337 (1952) [P 80—87]. — [423] Ledingham, J. M.: Clin. Sci. **13**, 543 (1954) [80—87]. — [424] Ledingham, J. M.: Clin. Sci. **13**, 575 (1954) [84—87]. — [425] Nairn, R. C.: J. of Path. **67**, 537 (1954) [N 83]. — [426] Orbison, J. L., E. Peters and C. L. Christian: Arch. of Path. **61**, 456 (1954). — [427] Selye, H., and C. Dome: Amer. J. Physiol. **132**, 522 (1941) [G 80—87]. — [428] Teng, H. C., A. P. Shapiro and A. Grollman: Metabolism **3**, 405 (1954) [N 80—83]. — [429] Tobian, L.: Amer. J. Physiol. **181**, 599 (1955) [O 85—87]. — [430] Tobian, L.: J. Clin. Invest. **35**, 740 (1956) [O 80—87]. — [431] Tobian, L., and J. Binion: Amer. J. Physiol. **171**, 773 (1952) [G/O 85—87]. — [432] Tobian, L., and J. Binion: J. Clin. Invest. **33**, 1407 (1954) [G/O 85—87]. — [433] Tobian, L., and J. T. Binion: Circulation (New York) **5**, 754 (1955) [85—87].

4. Nierenfunktion [Natriurese, Diurese]

[434] Alpert, L. K., and C. B. Thomas: Bull. Johns Hopkins Hosp. **66**, 407 (1940) [N 81]. — [435] Black, D., R. Platt and S. Stanburg: Clin. Sci. **9**, 205 (1950). — [436] Braun-Menendez, E.: Rev. Soc. argent. Biol. **28**, 23 (1952). — [437] Corcoran, A. C.: Amer. J. Physiol. **129**, 698 (1940). — [438] Cottier, P. T., S. W. Hoobler and J. M. Weller: J. Clin. Invest. **35**, 698 (1956). — [439] Friedman, S. M., J. A. M. Hinke and D. R. Hardwick: Circulation Res. **3**, 297 (1955). — [440] Hollander, W.: Clin. Res. Proc. **3**, 117 (1955). — [441] Holle, F., u. E. Kern: Klin. Wschr. **1954**, 67. — [442] Kubicek, W. G., F. J. Kottke, D. J. Laker and M. B. Visscher: Amer. J. Physiol. **174**, 397 (1953). — [443] Selye, H., and L. Bassett: Proc. Soc. Exper. Biol. a. Med. **45**, 272 (1940) [G 81].

5. Pressorsubstanzen

[444] Abelons, J., et E. Barcher: J. de Physiol. **10**, 627 (1918). — [445] Addis, T., E. Barrett, R. I. Boyd and H. J. Ureen: J. of Exper. Med. **89**, 131 (1949) [A 27/29]. — [446] Akers, R. P., S. G. Hershey and B. W. Zweifach: Amer. J. Physiol. **178**, 63 (1954). — [447] Borgström, S. A.: Acta med. scand. **148**, Suppl. 290 (1954). — [448] Braun-Menendez, E.: Pharmacologic. Rev. **8**, 25 (1956). — [449] Braun-Menendez, E., J. C. Fasciolo, L. F. Leloir and J. M. Munoz: J. of Physiol. **98**, 283 (1940). — [450] Braun-Menendez, E., J. C. Fasciolo, L. F. Leloir, J. M. Munoz and A. C. Taquini: Renal hypertension. Springfield, Ill.: Ch. C. Thomas 1946. — [451] Collins, D. A., and C. D. Harakal: Amer. J. Physiol. **171**, 714 (1952). — [452] Corcoran, A. C., and G. M. C. Masson: Federat. Proc. **8**, 28 (1948). — [453] Croxatto, H.: Acta Physiol. Latinoamer. **2**, 159 (1952). — [454] Croxatto, H., and R. Croxatto: Science (Lancaster, Pa.) **95**, 101 (1942). — [455] Davis, D. F., N. S. Olson and H. A. Schroeder: Circulation (New York) **5**, 380 (1952). — [456] Dengler, H.: Z. exper. Med. **127**, 153 (1956). — [457] Enger, R.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **204**, 217 (1947). — [458] Friedman, B., E. Somkin and E. T. Oppenheimer: Amer. J. Physiol. **128**, 481 (1940). — [459] Goldman, M. L., J. P. Kriss, P. H. Futcher and H. A. Schroeder: Amer. J. Med. Sci. **217**, 637 (1949). — [460] Handler, P., and F. Bernheim: J. Gerontol. **6**, 98 (1951). — [461] Handler, P., and F. Bernheim: Federat. Proc. **10**, 194 (1951). — [462] Helmer, D. M.: J. Gerontol. **6**, 101 (1951). — [463] Holtz, P., u. K. Credner: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **204**, 244 (1947). — [464] Holtz, P., K. Credner u. G. Kroneberg: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **204**, 228 (1947). — [465] Hughes-Jones, N. C., G. W. Pickering, P. H. Sanderson, H. Scarborough and J. Vandenbroucke: J. of Physiol. **109**, 288 (1949). — [466] Kahn, J. R., L. T. Skeggs jr. and N. P. Shumway: Circulation (New York) **2**, 363 (1950). —

[467] Kroneberg, G., u. H. J. Schumann: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **209**, 350 (1950). — [468] Lange, J.: Münch. med. Wschr. **1930**, 2095. — [469] Lockett, M. F.: J. of Physiol. **103**, 185 (1944). — [470] Lockett, M. F.: J. of Physiol. **105**, 117, 126 (1946). — [471] Masson, G. M. C., and A. C. Corcoran: Federat. Proc. **15**, 126 (1956). — [472] Masson, G. M. C., G. Helmcke, A. C. Corcoran and I. H. Page: Proc. Soc. Exper. Biol. a. Med. **94**, 544 (1957). — [473] Mazur, A., and E. Shorr: J. of Biol. Chem. **176**, 771 (1948). — [474] Nuzum, F. R., and F. Bischoff: Circulation (New York) **7**, 96 (1953). — [475] Page, I. H.: Hypertension. p. 3. London: Ciba Found. Symp. 1954. — [476] Page, I. H.: Physiologic. Rev. **34**, 563 (1954). — [477] Peart, W. S.: Biochemic. J. **59**, 300 (1955). — [478] Pickering, G. W., and M. Prinzmetal: J. of Physiol. **98**, 314 (1940). — [479] Pickering, N.: Hypertension Symposium Minnesota Press 1951. — [480] Prado, J. L., Z. P. Picarelli, R. Kupper, E. S. Prado and J. R. Valle: Circulation Res. **2**, 359 (1954). — [481] Prinzmetal, M., and B. Friedman: Proc. Soc. Exper. Biol. a. Med. **35**, 122 (1936). — [482] Read, W. O.: Amer. J. Physiol. **182**, 545 (1955). — [483] Remington, J. W., W. D. Collings, H. W. Hays, W. M. Parkins and W. W. Swingle: Amer. J. Physiol. **132**, 622 (1941). — [484] Rittel, W., B. Iselin, H. Kappeler, B. Riniker u. R. Schwyzer: Helvet. chim. Acta **40**, 614 (1957). — [485] Schroeder, H. A.: Hypertensive diseases. Philadelphia: Lea & Febiger 1953. — [486] Schroeder, H. A., and N. S. Olsen: Adv. Chemistry, Series 2, May 23 (1950). — [487] Schroeder, H. A., and H. M. Perry jr.: Federat. Proc. **14**, 134 (1955). — [488] Schroeder, H. A., H. M. Perry jr., E. G. Dennis and L. E. Mahoney: J. of Exper. Med. **102**, 319 (1955). — [489] Sellers A. L., S. Smith III, H. C. Goodman and J. Marmorston: Amer. J. Physiol. **166**, 619 (1951). — [490] Shipley, R. E., O. M. Helmer and K. G. Kohlstaedt: Amer. J. Physiol. **149**, 708 (1947). — [491] Shorr, E.: Transact. Ass. Am. Physicians **60**, 28 (1947). — [492] Shorr, E.: Factors regulating blood pressure. Transact. 4th Conf. Josiah Macy, Jr. Found., New York 1950. — [493] Shorr, E.: Amer. J. Med. **4**, 120 (1948). — [494] Shorr, E., and S. Baez: Federat. Proc. **12**, 132 (1953). — [495] Skeggs, L. T. jr., W. H. Marsh, J. R. Kahn and N. P. Shumway: J. of Exper. Med. **99**, 275 (1954). — [496] Skeggs, L. T. jr., K. E. Lentz, J. R. Kahn, N. P. Shumway and K. R. Woods: J. of Exper. Med. **104**, 193 (1956). — [497] Suarez, J. R. E., y J. C. Fasciolo: Acta Physiol. Latinoamer. **1**, 266 (1950). — [498] Taquini, A. C., and J. C. Fasciolo: J. Amer. Med. Assoc. **133**, 61 (1947). — [499] Tigerstedt, R. u. P. G. Bergmann: Skand. Arch. Physiol. (Berl. u. Lpzg.) **8**, 223 (1898). — [500] Victor, J., A. Steiner and D. M. Weeks: Arch. of Path. **29**, 728 (1940). — [501] Vigneaud, V. du, D. T. Gish and P. G. Katsoyannis: J. Amer. Chem. Soc. **76**, 4751 (1954). — [502] Werle, E., R. Kehl u. K. Koebke: Biochem. Z. **320**, 372 (1950). — [503] Werle, E., R. Vogel u. L. F. Göldel: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **230**, 236 (1957). — [504] Whitney, J., S. Smith III, J. Marmorston, H. C. Goodman and A. L. Sellers: Amer. J. Physiol. **176**, 419 (1954).

D. Pharmakologie

(Apresolin, Serpasil usw.)

[505] Antopol, W., and B. W. Zweifach: Proc. Soc. Exper. Biol. a. Med. **92**, 752 (1956). — [506] Bacq, Z. M., R. Charlier, E. Philippos and P. Fischer: Brit. J. Pharmacol. **4**, 162 (1949). — [507] Barker, M. H.: J. Amer. Med. Assoc. **106**, 762 (1936). — [508] Bein, H. J.: Pharmacol. Rev. **8**, 435 (1956). — [509] Bein, H. J.: Experientia (Basel) **9**, 107 (1953). — [510] Bein, H. J., u. R. Meier: Schweiz. med. Wschr. **1951**, 446. — [511] Bein, H. J., F. Gross, J. Tripod u. R. Meier: Schweiz. med. Wschr. **1953**, 336. — [512] Bein, H. J., F. Gross, J. Tripod u. R. Meier: Schweiz. med. Wschr. **1953**, 1007. — [513] Carlsson, A., E. Rosengren, A. Bertler e J.

Nilsson: Symposium internazionale sui farmaci psicotropi, Milano, 9.—11. Mai 1957. — [514] Chappel, C. I., M. P. Charest, J. Cahill and G. A. Grant: Endocrinology (Springfield, Ill.) **60**, 677 (1957). — [515] Chart, J. J., G. Ulsamer, L. Quinn, N. Howie, B. Sullivan and R. Gaunt: Federat. Proc. **16**, 22 (1957). — [516] Cier, J. F., et J. Klepping: C. r. Soc. Biol. (Paris) **150**, 703 (1956) [D 1]. — [517] Corcoran, A. C., I. H. Page and H. P. Dustan: Federat. Proc. **12**, 28 (1953). — [518] Entwisle, G., and C. A. Stone: Amer. J. Physiol. **172**, 245 (1953). — [519] Gaunt, R., and A. A. Renzi: Ciba Clin. Symp. **6**, 29 (1954). — [520] Gaunt, R., N. Antonchak, G. J. Miller and A. A. Renzi: Amer. J. Physiol. **182**, 63 (1955). — [521] Gaunt, R., A. A. Renzi, N. Antonchak, G. J. Miller and M. Gilman: Ann. New York Acad. Sci. **59**, 22 (1954). — [522] Grollman, A.: J. Pharmacol. a. Exper. Ther. **84**, 128 (1945). — [523] Gross, F.: Klin. Wschr. **1955**, 1113. — [524] Gross, F., B. Noelpp, F. Sulser, R. Doebelin u. H. Kündig: Klin. Wschr. **1955**. 372. — [525] Guillemin, R.: Semaine Hôp. **27**, 61 (1951). — [526] Guillemin, R., and C. Fortier: Endocrinology (Springfield, Ill.) **48**, 617 (1951). — [527] Hardegg, W., W. Maass, G. Mayer, H. Abel u. K. Huhnstock: Klin. Wschr. **1955**, 811 [P 30, U 30]. — [528] Haynes, F. W.: Amer. J. Physiol. **183**, 625 (1955) [A 27, O 26, G 61, A 20]. — [529] Héroux, O., and J. L. Bonenfant: Canad. J. Med. Sci. **30**, 79 (1952). — [530] Héroux, O., and L. P. Dugal: Rev. Canad. Biol. **10**, 123 (1951). — [531] Hiatt, E. P.: Federat. Proc. **7**, 54 (1948). — [532] Huffmann, M. M., M. H. Lott and A. Tillotson: J. of Biol. Chem. **218**, 565 (1956). — [533] Keller, R.: Praxis (Bern) **1953**, 12 [A 30]. — [534] Keller, R.: Praxis (Bern) **1954**, 113 [A 30]. — [535] Lindauer, M. A., J. Q. Griffith jr., and W. A. Jeffers: Proc. Soc. Exper. Biol. a. Med. **38**, 497 (1938). — [536] McCubbin, J. W., and I. H. Page: Amer. J. Physiol. **167**, 714 (1951). — [537] Masson, G. M. C., R. C. Nairn and A. C. Corcoran: Endocrinology (Springfield, Ill.) **57**, 670 (1955). — [538] Mayer, G.: Z. ges. exper. Med. **128**, 27 (1956) [U 30]. — [539] Meier, R., J. Tripod u. C. Brüni: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **223**, 338 (1951). — [540] Meier, R., J. Tripod et C. Brüni: Arch. internat. Pharmacodynamie **101**, 158 (1955). — [541] Meier, R., H. J. Bein, F. Gross u. J. Tripod: Proc. IIIrd Internat. Congr. Int. Med., Stockholm 1954. — [542] Miescher, P.: Arch. internat. Pharmacodynamie **85**, 399 (1951). — [543] Minatoya, H., et F. P. Luduena: Arch. internat. Pharmacodynamie **108**, 102 (1956). — [544] Murray, J. R., and J. W. Nelson: J. Amer. Pharmaceut. Assoc. **46**, 10 (1957). — [545] Nickerson, M., F. Bullock and G. M. Nomaguchi: Proc. Soc. Exper. Biol. a. Med. **68**, 425 (1948) [K 28]. — [546] Ohler, E. A., and R. W. Sevy: Amer. J. Physiol. **175**, 285 (1953). — [547] Ohler, E. A., and G. E. Wakerlin: Circulation Res. **1**, 122 (1953) [A 28]. — [548] Reed, R. K., L. A. Sapirstein, F. D. Southard and E. Ogden: Amer. J. Physiol. **141**, 707 (1944). — [549] Roth, F. E., J. Schurr, E. Moutis et W. M. Govier: Arch. internat. Pharmacodynamie **108**, 473 (1956). — [550] Schafer, P. W.: Proc. Soc. Exper. Biol. a. Med. **55**, 274 (1944). — [551] Schroeder, H. A., E. M. Menhard and H. M. Perry jr.: J. Labor. a. Clin. Med. **45**, 431 (1955). — [552] Schuler, W., u. R. Meier: Helvet. physiol. Acta **13**, 106 (1955). — [553] Skelton, F. R.: Canad. J. Biochem. Physiol. **34**, 520 (1956). — [554] Stafford, R. O., L. C. Thole and K. J. Olson: Endocrinology (Springfield, Ill.) **52**, 292 (1953). — [555] Sturtevant, F. M.: Proc. Soc. Exper. Biol. a. Med. **84**, 101 (1953). — [556] Sturtevant, F. M.: Federat. Proc. **16**, 338 (1957). — [557] Tripod, J., et R. Meier: Arch. internat. Pharmacodynamie **97**, 251 (1954). — [558] Tripod, J., u. R. Meier: Helvet. physiol. Acta **12**, C 33 (1954). — [559] Tripod, J., et R. Meier: Arch. internat. Pharmacodynamie **99**, 104 (1954). — [560] Wakerlin, G. E., and W. Gaines: Amer. J. Physiol. **130**, 563 (1940). — [561] Waser, P., u. R. Keller: Helvet. physiol. Acta **12**, C 94 (1954) [G 64]. — [562] Wastl, H.: Hahnemann Monthly **79**, 1 (1944).

F. Grosse-Brockhoff (Düsseldorf): Pharmakotherapie des Hochdrucks und ihre klinischen Ergebnisse

Mit 6 Textabbildungen

Vor die Therapie haben bekanntlich die Götter die richtige Diagnose gesetzt. Hypertonie bedeutet aber noch keine Diagnose. Mit der Feststellung einer Hypertonie ist zunächst nichts anderes ausgesagt als daß eine Erhöhung des Blutdrucks über den Normbereich vorliegt; die Ursache hierfür kann sehr verschiedener Natur sein (siehe Tab. 1).

Tabelle 1. *Faktoren, die den arteriellen Blutdruck erhöhen (in Anlehnung an* Page)

1. Essentielle Hypertonie

2. Renaler Hochdruck
- Glomerulonephritis
- Obstruktion der Nierengefäße
- Pyelonephritis
- Harnabflußstörungen
- Cystenniere
- Periarteriitis nodosa
- Perirenale Nierenparenchymkompression

3. Endokriner Hochdruck
- Basophiles Adenom der Hypophyse
- Nebennierenrindenhyperplasie
- Nebennierenmarktumor
- Nebennierenrindencarcinom
- Thymus-Carcinom mit Cushing-Syndrom
- Placentarstoffe (Eklampsie)
- Conn-Syndrom

4. Cardiovasculärer Hochdruck
- Aortenisthmusstenose
- Arteriovenöse Fistel
- Arteriosklerose (?)

5. Neurogener Hochdruck
- Chronische Porphyrie
- Hirnstammpoliomyelitis
- Gesteigerter Hirndruck
- Sklerose des Sinus caroticus
- Tabes dorsalis
- Psychische Erregung

Die in Tab. 1 angegebenen verschiedenartigen Ursachen pathologischer Blutdrucksteigerungen scheiden zum Teil für eine medikamentöse Behandlung aus. Das Hauptanwendungsgebiet für eine Pharmakotherapie betrifft mit gewisser Einschränkung die „nephrogene", vor allem aber die „essentielle" Hypertonie. Dabei ist zu betonen, daß diese Einschränkung das große Krankengut der in der Klinik beobachteten Hypertonien nur wenig einengt. Die essentielle Hypertonie nimmt in der Klinik gegenüber den anderen Formen der Hypertonie den größten Raum ein.

Die Feststellung einer essentiellen Hypertonie bedeutet für den Kliniker eine Diagnose, bei der die pathologische Blutdrucksteigerung das einzige faßbare Krankheitszeichen ist, das über längere Zeiträume besteht und das seiner Natur nach meist progredient ist. Es kann auch heute noch keine Rede davon sein, daß wir über die Ursachen der

essentiellen Hypertonie konkrete und bindende Angaben machen könnten. Es handelt sich neben der erbbedingten Anlage um eine Verflechtung vielfältiger Faktoren, die bei der essentiellen Hypertonie als ursächlich in Frage kommen, wie durch das folgende Schema veranschaulicht werden soll (Abb. 1).

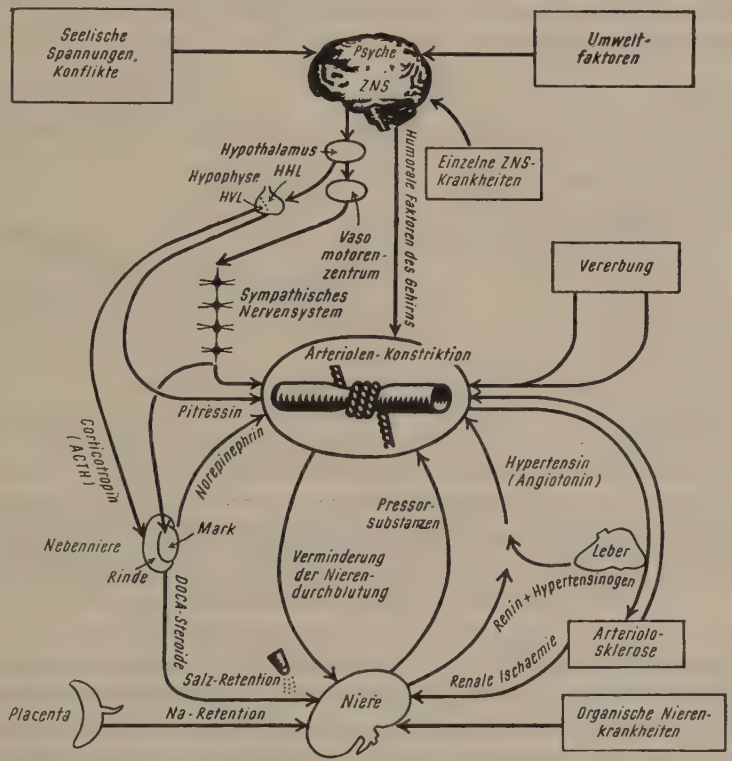


Abb. 1. → Faktoren, die zur Arterien-Konstriktion führen

Beginnen wir die Besprechung der Behandlung der essentiellen Hypertonie mit dem Faktor der Salzretention, der auch in der schematischen Übersicht einen gebührenden Platz gefunden hat. Wenn es sich bei der therapeutischen Beeinflussung durch eine hochgradig kochsalzarme Diät auch nicht um eine Pharmakotherapie handelt, so können wir auf eine kurze Besprechung der Beeinflussungsmöglichkeit des Hochdrucks durch NaCl-Entzug nicht verzichten, zumal hiermit die medikamentöse Behandlung eng verflochten ist. Nachdem die Kochsalzempfindlichkeit der Hypertoniker durch Ambard u. Beaugard, Allen u. Volhard festgestellt worden war, konnte die fast gesetzmäßige Abhängigkeit der Blutdruckhöhe beim Hypertoniker von der täglichen Kochsalzzufuhr durch die Untersuchungen von Martini nachgewiesen

und die prompte blutdrucksenkende Wirkung des strikten Kochsalzentzuges mit Sicherheit bewiesen werden (siehe Abb. 2). Nach den Untersuchungen von Martini u. Kaiser ist bei etwa drei Viertel aller zur Behandlung kommenden Patienten mit essentieller Hypertonie durch Kochsalzentzug eine wesentliche Erniedrigung des Blutdrucks zu erreichen. Aber die Durchführung dieser Diät stellt an die Disziplin der Patienten ganz erhebliche Anforderungen. Bei Patienten, die schon bei

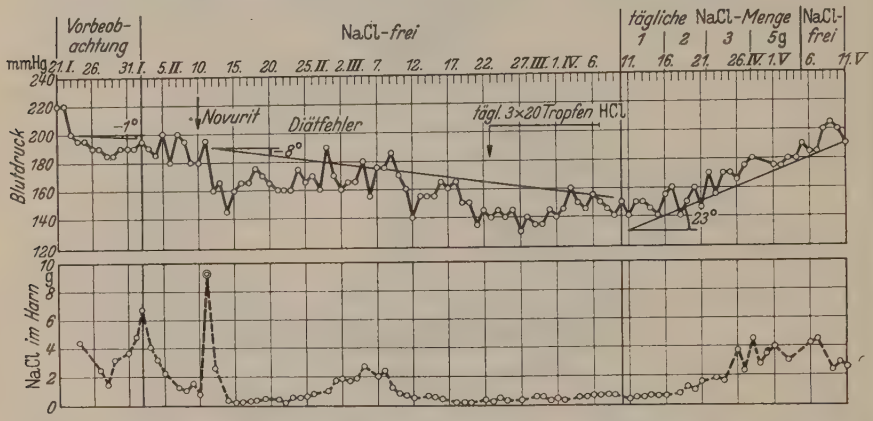


Abb. 2 zeigt das Verhalten des Blutdrucks eines Patienten mit essentieller Hypertonie bei Verabfolgung von NaCl-freier Kost sowie anschließender Kochsalzzulage. Bei Kochsalzentziehung erfolgt ein stetiges Absinken des Blutdrucks, Kochsalzzulage läßt den Druck prompt wieder ansteigen. Durch Verabfolgung von Quecksilber-Diuretica kann die „Entsalzung" infolge erhöhter NaCl-Ausscheidung im Urin wesentlich unterstützt werden mit entsprechender Reaktion des Blutdrucks. Diätfehler bei der Kochsalzentziehung schränken den blutdrucksenkenden Effekt ein

kochsalzarmer Diät (d. h. bis zu 2 g NaCl täglich) mit ihrem Blutdruck gut reagieren, mag es mit der Einhaltung der Diät noch angehen. Die strenge Durchführung der Diät mit einem NaCl-Gehalt von unter 1 g täglich ist aber vielfach aus rein technischen Schwierigkeiten nicht durchführbar. Um so mehr mußten daher Pharmaka interessieren, mit deren Hilfe eine erhöhte Kochsalzausscheidung zu erreichen ist. So zeigt Martini schon im Jahre 1938, daß der Blutdruck durch eine mittels Novurit (WZ) (bzw. Salyrgan, WZ) erreichte verstärkte Kochsalzausscheidung schneller gesenkt werden konnte. Er bezog diese Wirkung damals noch in erster Linie auf die erhöhte Chlorausscheidung, zumal in dieser Zeit dem Chlor eine spezifisch blutdrucksteigerndeWirkung zugesprochen wurde. In der Folgezeit stellte sich jedoch heraus, daß man auch mittels Kationenaustauschern eine signifikante Blutdrucksenkung beim Hypertoniker erzielen kann (siehe Abb. 3). Da die Kationenaustauscher die Natrium-Ausfuhr auf enteralem Wege erhöhen, sah es nunmehr so aus, als wenn die alte Streitfrage, ob Natrium oder Chlor spezifisch auf die Höhe des Blutdrucks einwirken, zugunsten des

Natriums entschieden sei. Doch stellten Kaiser u. Mitarb. an der Martinischen Klinik fest, daß unter der Therapie mit Kationenaustauschern neben der bereits bekannten erhöhten Natrium-Ausscheidung durch den Stuhl (Herken u. Mitarb.) im Urin gleichfalls eine erhöhte Chlor-Ausscheidung stattfindet. Verfolgt man weiterhin die tierexperimentellen und klinischen Arbeiten, die in den letzten Jahren zur Klärung dieses

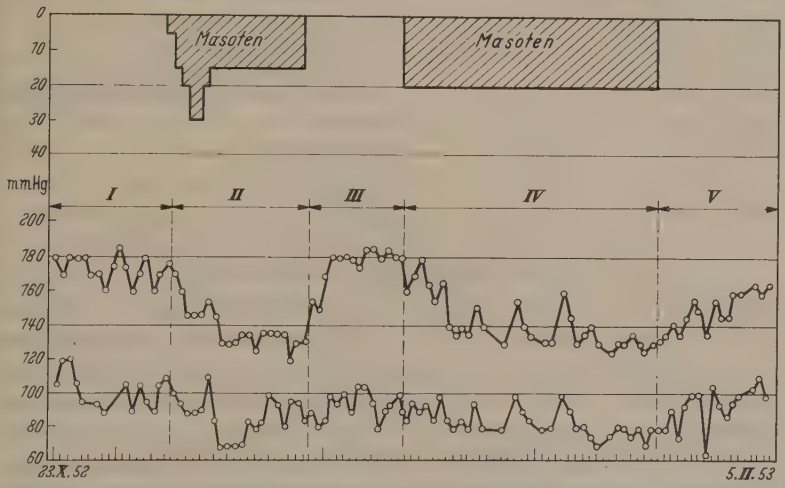


Abb. 3 zeigt die Wirkung der Kationenaustauscher auf systolischen und diastolischen Blutdruck bei der essentiellen Hypertonie. Während der Dauer der Austauscherwirkung liegen die Blutdruckwerte gegenüber den anderen Untersuchungsmethoden signifikant niedriger

Problems an der Martinischen Klinik durchgeführt wurden, so ergibt sich etwa folgendes Bild: Die blutdrucksenkende Wirkung der Kochsalzrestriktion in der Nahrung ist weder allein auf das Natrium noch allein auf das Chlor zu beziehen. Blutdruckwirksam ist Natriumchlorid. Die Blutdruckwirksamkeit des NaCl wiederum scheint an Flüssigkeitsverschiebungen zwischen extra- und intracellulärer Flüssigkeit gebunden zu sein, und zwar derart, daß bei steigender NaCl-Retention eine Zunahme der extracellulären Flüssigkeit blutdrucksteigernd, eine Abnahme der extracellulären Flüssigkeit bei NaCl-Einschränkung dagegen blutdrucksenkend wirkt (Martini, Kaiser u. Mitarb.).

Trotzdem sich auf Grund dieser Erkenntnisse auch in therapeutischer Hinsicht interessante Gesichtspunkte eröffnen, bleibt die praktische Durchführung eines strikten Kochsalzentzuges weiterhin sehr problematisch. Wenn wir auch mit Salyrgan, mit Kationenaustauscher oder mit Diamox (WZ) die NaCl-Ausfuhr verstärken können, so bleibt eine solche Therapie immer nur auf kürzere Zeitintervalle begrenzt. Der Hochdruck erfordert aber als permanentes bzw. progredientes Leiden eine stetige Behandlung.

Wenden wir uns jetzt der medikamentösen Therapie mit blutdrucksenkenden Stoffen zu, so stehen uns in der Hauptsache folgende Pharmaka zur Verfügung (siehe Tab. 2):

Tabelle 2

1. Substanzen, die die vegetativen Ganglien blockieren (Ganglienblocker)
- a) Tetraäthylammonium
- b) Hexamethonium
- c) Pentapyrrolidinium
- d) Pendiomid
- e) Mecamylamin
- f) Camphidonium
- g) Ecolid

2. Pharmaka, die in erster Linie zentraldämpfend wirken
- a) Hydergin
- b) Hydrazinphthalazine
- c) Rauwolfia serpentina

3. Pharmaka, die in erster Linie die peripheren autonomen Nervenendigungen lähmen
- a) Dibenamin
- b) Dibenzylin
- c) Regitin

4. Die Alkaloide aus Veratrum

I. Ganglienblockierende Substanzen

Die für die Hochdruckbehandlung mit diesen Stoffen verwertbaren Verbindungen sind in erster Linie das *Hexamethoniumbromid* und das *Pentamethoniumpyrrolidin* (Literatur siehe Arnold). Diese Stoffe haben eine starke Wirkung auf den Blutdruck, selbst bei sonst sehr resistenten Hypertonien. Allerdings gelingt eine Blutdrucksenkung oft erst mit sehr großen Dosen. Die individuelle Ansprechbarkeit ist sehr unterschiedlich. So schwankt z. B. die Minimaldosis, die den Blutdruck um 40—30 mm Hg systolisch senkt, zwischen 5 und 150 mg bei subcutaner Applikation. Bei gleichzeitig verabreichter kochsalzfreier Diät scheint die Sensibilität gegen die genannten Verbindungen verstärkt. Smirk empfiehlt zu Beginn der Behandlung subcutane Gaben von 3 mal täglich 15 oder 20 mg. Jede Dosis kann bei Bedarf pro Tag um 5—10 mg gesteigert werden. Mehr als 200—500 mg/die sollten nicht verabfolgt werden. Die Wirkung bei peroraler Verabfolgung ist unsicherer als bei subcutaner oder intramuskulärer Injektion. Vor allem haben die genannten Verbindungen unangenehme Nebenwirkungen: Störungen der Magen-Darm-Motilität. Constipation, Akkomodationsstörungen, Trockenheit im Mund und vor allem Neigung zu hypotonen Kollapszuständen bei aufrechter Körperhaltung (Page). Orthostatische Kollapse sind bei der Blutdrucksenkung durch Hexamethoniumbromid sehr zu fürchten. Außer den eben erwähnten Nebenwirkungen müssen noch als gefährliche Komplikationen während einer solchen Therapie genannt werden: die starke Verminderung der Nierendurchblutung (dauernde Kontrolle des Rest-N erforderlich), Ileus, arterielle Thrombosen in den Coronargefäßen und in den cerebralen Arterien besonders bei Kollapsen; Darmblutungen unter Umständen mit Geschwürsbildungen. Auch das Auftreten interstitieller Pneumonien im Gefolge dieser Behandlung wird beschrieben (Arnold).

Besonders hervorzuheben ist die Gegenindikation der Anwendung bei eingeschränkter Nierenfunktion und besonders bei Rest-N-Erhöhungen. Kühns u. Mitarb. weisen eigens darauf hin, daß im Gegensatz zu der von Smirk vertretenen Ansicht doch leider fast immer in diesen Fällen eine Verschlechterung der Gesamtsituation mit weiterem Anstieg des Rest-N, Wasser-Rentention und Verminderung des Glomerulusfiltrates zu beobachten ist. Bei diesen Formen der Hypertonie mit weitgehender Beteiligung der Nieren ist die intramuskuläre Verabreichung hoher Reserpin-Dosen (6 mg/die) eventuell mit kleinen Mengen Hydrazinphthalazine (3 mal 12,5—25 mg per os) vorzuziehen.

Während aus Australien über das Pentamethoniumpyrrolidin und aus den USA über das Hexamethonium zahlreiche und optimistische Berichte vorliegen, hat sich in Deutschland die Behandlung mit den ganglienblockierenden Substanzen bis heute nicht recht durchzusetzen vermocht. Man wird jedoch bei der klinischen Behandlung ausgesprochen progressiver Hypertonien — allerdings meist in Kombination mit den anders angreifenden Stoffen (siehe später) — auf diese Form der Therapie manchmal zurückgreifen müssen, wenn mit den einfacher zu handhabenden Behandlungsmethoden nichts mehr auszurichten ist. Für die praktische Anwendung auf breiter Basis, vor allem in der ambulanten Behandlung, müssen diese Stoffe aber als ungeeignet angesehen werden. In der letzten Zeit ist, vor allem aus den USA, über eine weitere Entwicklung der Tetraäthylammonium-Präparate berichtet worden. Diese neuen Substanzen sind enteral besser resorbierbar, besser verträglich, zeigen eine längere Wirkungsdauer bei nur geringer parasympathischer Wirkung. Das von der Ciba hergestellte „*Ecolid*" (WZ) stellt eine Weiterentwicklung des Pentamethoniumpyrrolidins dar, ebenso das „*Mecamylamin*" (WZ). In der Wirkung entsprechen etwa 25 mg „Ecolid" 20 mg „Mecamylamin". Die bisquaternäre Verbindung „*Camphidonium*" (WZ) ist heute in Deutschland die therapeutisch bekannteste Verbindung. Als Dosierung wird angegeben, daß, beginnend mit 1 Tablette das Präparat „Camphidonium" morgens nach dem Frühstück genommen wird. Je nach Stärke und Dauer der Blutdruckreaktion wird die zweite Dosis meist etwa in der Mitte des Tages verabfolgt. Unter laufender Kontrolle des Blutdrucks (stündliche Messung!) werden diese beiden täglichen Gaben so lange um 1 Tablette erhöht, bis über den ganzen Tag hinweg eine Normotonie beim Aufsein erreicht wird. Dabei ist eine Verteilung auf 3 Tagesdosen oft nicht vermeidbar. Das Auftreten von Nebenerscheinungen (Kopfdruck, Übelkeit, Schwindelgefühle, Kollapsneigung im Sinne orthostatischer Erscheinungen, Sehstörungen infolge Akkommodationsschwäche, Obstipation und Magenbeschwerden) geht nicht der einsetzenden Blutdrucksenkung parallel und ist individuell recht verschieden. Bemerkenswert ist noch, daß das Auftreten einer mit dem Fortfall der normalen

Blutdruckregulation unter der Ganglienblockade zusammenhängenden Kollapsneigung stets so langsam erfolgt, daß die Patienten Zeit finden, sich zu legen (Kühns u. Mitarb.). Bär u. Ludwig glauben, daß sich die Nebenerscheinungen bei längerer Behandlungsdauer abschwächten oder von den Patienten nicht mehr als besonders störend empfunden wurden. Meine eigenen Erfahrungen gehen nicht in diese Richtung. Auf Grund ihrer pharmakologischen Eigenschaften (Ford u. Mitarb.) wirken die ganglioplegischen Stoffe nur ausreichend, wenn der Patient entweder steht oder sitzt.

Die von Ford u. Mitarb. angegebenen Daten zeigen, daß das Mecamylamin im Vergleich zu Hexamethonium und Pentolinium wesentlich wirksamer ist (siehe Tab. 3).

Tabelle 3

	Zahl der Patienten	tägliche Dosierung mg	positiver Effekt bei %	normaler Blutdruck bei %
Mecamylamin	81	28	90	34
Hexamethonium	75	2307	76	37
Pentolinium	75	341	79	33

Bär u. Ludwig geben im Gegensatz hierzu an, daß eine gute intestinale Resorption und maximale perorale Wirksamkeit nur dann erzielt werden, wenn die Einnahme von Camphidonium frühmorgens bei nüchternem Magen erfolgte.

Kurz genannt sei noch das Pendiomid (WZ), das sich bei der Behandlung von Blutdruckkrisen (z. B. Eklampsie) bewährt hat, für die Dauerbehandlung der Hypertonie jedoch nicht mehr in Frage kommt.

2. Pharmaka, die vor allem zentral dämpfend wirken

Rein theoretisch gesehen ist von den Stoffen die umfassendste und wohl auch schonendste Wirkung zu erwarten, die zentral an den vegetativen vasomotorischen Regulationsgebieten im Gehirn angreifen (Arnold), da von hier aus die Wirkung am besten koordiniert und die störenden Gegenregulationen am geringsten sein dürften. Nach den bisherigen klinischen Erfahrungen dürfte sich diese Ansicht bestätigen. Die Stoffe mit vorwiegend zentralem Wirkungstyp haben bisher die weiteste Verbreitung gefunden (Rauwolfia, Hydrazinphthalazine).

Auf das *Hydergin*, das auch dieser Gruppe zuzuordnen ist und welches vor einigen Jahren viel von sich reden machte, brauche ich nicht näher einzugehen. Durch die Untersuchungen von Kaiser u. Martini sowie einer späteren Überprüfung durch Appelhans, Kaiser, Waterloh u. Welte darf die Unwirksamkeit des Hydergins auf den überhöhten Blutdruck als erwiesen gelten. Eine kritische Durchsicht der Literatur,

wie sie in der letztgenannten Arbeit erfolgt ist, ergibt keine Anhaltspunkte, die zu einer anderen Beurteilung des Präparates Berechtigung gäben. Die gleiche Meinung wurde auch auf dem Symposium über die Therapie des Hochdrucks anläßlich des Europäischen Cardiologenkongresses in Stockholm 1956 vertreten.

Die basisch substituierten *Hydrazinphthalazine* wurden von Gross, Druey u. Meier als blutdrucksenkende Stoffe erkannt. Die Wirkungsweise dieser Substanzen ist noch nicht geklärt. Sie wirken zentral dämpfend, aber auch peripher. Die periphere Wirkung wird teils als Adrenobzw. Arterenolyse, teils als direkte Gefäßmuskelwirkung aufgefaßt. Aus der großen Zahl der in Frage kommenden Verbindungen kommen für die klinische Anwendung vor allem zwei in Frage, das Hydrochlorid des 1-Hydrazinphthalazin (*Apresolin*, WZ) und das 1,4-Dihydrazinphthalazin (*Nepresol*, WZ). Der besondere Wirkungscharakter dieser Verbindungen gegenüber anderen blutdrucksenkenden Stoffen ist darin zu sehen, daß zu Beginn des Blutdruckabfalles eine Mehrdurchblutung in verschiedenen Gefäßgebieten, besonders in denen der Arteria renalis, eintritt. Dies ist insofern bemerkenswert, als die meisten blutdrucksenkenden Substanzen entweder die Nierendurchblutung unverändert lassen oder zu einer Einschränkung der Durchblutung im Gebiete der Arteria renalis führen (Reubi). Dabei ist das Ausmaß der Blutdrucksenkung ohne Einfluß auf den Grad der Änderung der Nierendurchblutung; beide Mechanismen laufen anscheinend getrennt nebeneinander her (Schmid u. Reubi). Für den therapeutischen Erfolg hat sich die Erhöhung der Nierendurchblutung jedoch als unwesentlich herausgestellt (siehe später).

Nach Schroeder, Page u. Mitarb. sowie Hafkenschiel wird der Blutdruck in etwa 50% aller Hypertonien durch Apresolin wesentlich herabgesetzt. Essellier u. Mitarb. konnten diese günstige Erfolgsquote für Apresolin nicht bestätigen, da das Mittel oft wegen Unverträglichkeit abgesetzt werden mußte.

Im Gegensatz zu Deutschland und auch vielleicht zu ganz Europa haben sich in den USA die Hydrazinphthalazine in die Therapie des Hochdruckes gut eingeführt und eine weite Verbreitung gefunden. Bei Durchsicht der amerikanischen Literatur fällt auf,daß nicht nur Nepresol, sondern auch Apresolin in täglichen Dosierungen angewendet und auch über längere Zeit fortgeführt, angeblich vertragen werden, die bei unseren Patienten auch bei gutwilligster Mitarbeit des Kranken nicht durchführbar waren. Die Nebenwirkungen in Form von Kopfschmerzen, Mißempfindungen von seiten des Herzens, Schwindel, Appetitlosigkeit und Erbrechen waren so stark, daß eine Behandlung in der von amerikanischen Autoren angegebenen Form nicht zumutbar erscheint. Es gilt dies besonders für Apresolin, in geringerem Maße auch für Nepresol —

wobei die blutdrucksenkende Wirkung des Nepresol gegenüber dem Apresolin deutlich geringer ist (Essellier u. Mitarb.). Arnold beschreibt bei lang dauernder Verabreichung hoher Dosen Apresolin sowie Nepresol (800—1000 mg) Fieber und Ödeme; bei etwa 10% aller mit diesen Dosen behandelten Patienten entwickelt sich ein Syndrom, das vieles mit dem visceralen Bild des akuten Lupus erythematodes gemeinsam hat. Moyer u. Handley berichten über die Wirkungslosigkeit längerer oraler Verabreichung des 2-Hydrazinphthalazins und über die offensichtliche Ausbildung von Toleranzerscheinungen (Tachyphylaxie), Schroeder, der bei „neurogenic hypertension" gute Erfolge sah, berichtet über Wirkungslosigkeit bei renal bedingten Hypertonieformen.

Wegen der sehr lästigen Nebenwirkungen der Hydrazinphthalazine kommt man allgemein auch in den USA immer mehr zu der Überzeugung, daß diese Stoffe nur in Kombination mit anderen hypotensiv wirkenden Mitteln gegeben werden sollen. Bei den Kombinationen, z. B. Serpasil mit Nepresol als *Adelphan* (WZ), wird meist eine gute Blutdrucksenkung erzielt, die beim Adelphan nach meinen eigenen Erfahrungen die des Serpasils übertrifft. Die dabei notwendige Nepresol-Dosis ist klein, würde allein wahrscheinlich gar keine Blutdruckwirkung haben und liegt weit unter der mit etwa 300 mg/die bezeichneten kritischen Dosis. Bei dieser Dosis sind auch noch keine unangenehmen Nebenwirkungen am Herzen zu beobachten, wie sie bei höherer Gabe von Hydrazinphthalazinen in Form von Herzjagen und pectanginösen Beschwerden auftreten. Auch entwickelt sich bei diesen niedrigen Dosen nicht so schnell eine fortschreitend zunehmende Toleranz, wie dies bei hohen Dosen regelmäßig zu beobachten ist (Arnold, Moyer u. Handley).

Die *Rauwolfia serpentina* stellt zur Zeit die Ausgangsbasis für die am meisten verbreitete Therapie der Hypertonie dar. Eine große Anzahl von Alkaloiden konnte aus der Pflanze extrahiert bzw. dargestellt werden, die hypotensive Wirkung ist vor allem an das Alkaloid *Reserpin* gebunden.

Im Vordergrund der Wirkung des Reserpins steht zunächst ein auffallender sedativer Effekt, der bei den meist sehr aktiven, oft leicht nervösen und unruhigen (temperamentvollen) Patienten mit essentieller Hypertonie als durchaus erwünscht anzusehen ist. Andere Nebenwirkungen sind schnupfenähnliche Mißempfindungen in der Nase, Neigung zu Durchfällen und manchmal deutliche Appetitzunahme, welche durch die resultierende Gewichtszunahme störend werden kann. Abgesehen von diesen meist leicht zu beherrschenden Nebenwirkungen treten bei Reserpin-Behandlung der Hypertonie keine Nebenwirkungen auf. Das sogenannte *akinetisch-abulische* Syndrom (Flügel) tritt erst bei sehr hohen Dosierungen auf, wie sie in der Psychiatrie vorzugsweise in Kombination von Chlorpromazin (250 mg Megaphen) und Serpasil (7 mg) verwendet werden. Depressive Verstimmungen können auch bei

niedrigen bis mittleren Dosen vorkommen. Möglicherweise können solche depressiven Reaktionen durch die Kombination von Serpasil mit Ritalin (Serpatonil) vermieden werden. Nach gründlichen, methodisch einwandfreien Untersuchungen besonders von Arnold u. Bock sowie von Füngers u. Kaiser konnten statistisch gesicherte Blutdrucksenkungen auch über die Wirkung von Bettruhe und Kochsalzentzug hinaus gesehen werden. Eine steigende Toleranz konnte auch bei lang dauernder Behandlung mit zum Teil hoher Dosierung nicht beobachtet werden (Arnold; Füngers u. Kaiser).

Nach den Untersuchungen von Arnold u. Bock, Heinz u. Losse sowie Kaiser u. Füngers kann in 40—45% der Fälle mit Rauwolfia-Präparaten eine zufriedenstellende Blutdrucksenkung (systolisch und diastolisch) erwartet werden. Dabei ist zu betonen, daß die Erfolgsquote für die „maligne" Hypertonie (Stadium der Arteriolonekrose) im Hinblick auf die Blutdrucksenkung nicht geringer ist als für die sogenannte „benigne" Form der Hypertonie.

Zur Dosierung kann folgendes Schema angegeben werden, wobei diesen Angaben natürlich nur eine anleitende Bedeutung zukommt: Beginnend mit 2mal 0,25 mg Serpasil kann entsprechend der Blutdruckreaktion mit täglich 0,25 mg bis zu einer täglichen Gabe von 2—2,5 mg gesteigert werden. Meistens ist bei dieser Dosierung ein zufriedenstellender Effekt zu erzielen, die Dosis kann aber, wenn notwendig, auf täglich 4—5 mg gesteigert werden. Ist mit diesen höheren Medikament-Mengen kein ausreichendes Ergebnis zu erzielen, so möchte ich nach meinen heutigen Erfahrungen die kombinierte Behandlung mit Nepresol und Reserpin (= Adelphan) vorschlagen (siehe auch weiter unten).

Über die parenterale Verabreichung von Reserpin habe ich selbst keine Erfahrungen. Nach den Angaben von Arnold ist sie bei allen Kranken zu empfehlen, bei denen eine schnellere Wirkung erwünscht ist, also bei allen Blutdrucksteigerungen plötzlicher Art, beim Asthma cardiale oder dem Lungenödem des Hypertonikers. Die erste Injektion sollte nicht mehr als 0,5 mg betragen, die spätere Dosis 1—2 mg. Auch intravenös ist Reserpin applizierbar; bei dieser Anwendungsform setzt die Blutdrucksenkung mit einer Verzögerung von 30 min bis 1 Std ein. Vorübergehende Kollapserscheinungen können durch horizontale Lagerung und eventuelle Injektion von Ephedrin behoben werden.

3. Pharmaka, die in erster Linie die peripheren autonomen Nervenendigungen lähmen

Unter den Dibenzyl-Verbindungen hat eigentlich nur das *Dibenamin* (WZ, ein dem Stickstoff-Lost verwandtes NN-Dibenzyl-β-Chloräthylamin-Chlorhydrat) als sympathicolytische und adrenolytische Substanz Eingang in die Therapie gefunden, weniger in Europa als

vielmehr in den USA. Die blutdrucksenkende Wirkung dieser Substanz kann (3—6 mg/kg als i.v.-Infusion) zweifelsohne recht eindrucksvoll sein. Das Dibenamin ist aber keineswegs ohne erhebliche Nebenwirkungen. Eichler, Klar u. Linder, Hauss u. Mitarb. und Jörgensen berichten über psychotische Erscheinungen mit Zwangslachen, Halluzinationen, Gedankenflucht, Verwirrtheitszuständen, Konvulsionen, Merkschwäche, Nausea, Erbrechen, Durchfällen, Kopfschmerzen (manchmal von migräneartigem Charakter), Gleichgewichtsstörungen, Schüttelfrösten, Tachypnoe, Schweißausbrüchen und Herzmuskelschäden. Es liegt somit ein buntes Bild zum Teil schwerer Nebenwirkungen vor, die es wirklich nicht ratsam erscheinen lassen, diese Substanz heute noch therapeutisch zu verwenden. Als weiteres, außerordentlich erschwerendes Moment kommt hinzu, daß Dibenamin nur in i.v.-Infusionen verabreicht werden kann. Daß bei den heute uns zur Verfügung stehenden Medikamenten dem Dibenamin praktisch keine Bedeutung mehr zukommt, dürfte auf der Hand liegen.

Auch *Regitin* (WZ) hat sich, verglichen mit den bereits abgehandelten Substanzen, für die lang dauernde Therapie der Hypertonie als nicht geeignet erwiesen.

4. Alkaloide aus Veratrum

Ich komme zur letzten Gruppe der in der Therapie des Bluthochdrucks bedeutsamen Substanzen, den Alkaloiden aus Veratrum.

Die Reinalkaloide aus Veratrum, die *Protoveratrine A* und *B* haben sich wegen der Möglichkeit ihrer exakten Dosierung nach Milligramm den Pflanzenextrakten aus Veratrum album oder viride als überlegen erwiesen. Die Schwierigkeit der therapeutischen Anwendung des Protoveratrins liegt einerseits in der engen Koppelung des therapeutisch erwünschten Effektes mit einer Neigung zur Nausea, andererseits in der kurzen Wirkungsdauer auch der oralen Gaben (Arnold). Eine Dosis von 0,5 mg per os wirkt höchstens 2—3 Std. Bei i.v.-Anwendung ist Tropfinfusion notwendig. Die Wirkungsweise auf den Blutdruck ist noch nicht eindeutig aufgeklärt. Teilweise beruht sie auf einem zentralen Angriff. Inwieweit die nachgewiesene Sensibilisierung von parasympathischen Pressoreceptoren im Bereich des Carotissinus für die blutdrucksenkende Wirkung mit verantwortlich zu machen ist, muß dahingestellt bleiben. Schließlich ist noch eine unmittelbare relaxierende Wirkung auf die Gefäßmuskulatur zu erwägen. Die Empfindlichkeit der einzelnen Patienten ist sehr wechselnd, die Dosierung sollte zu Beginn der Behandlung vorsichtig bei mindestens viertelstündlichen Blutdruckmessungen eingestellt werden. Eine höhere Gabe als 2,5 mg/die wird meist durch Nausea unmöglich gemacht; allerdings kann keine klare Abhängigkeit der Nausea von der Dosierung festgestellt werden. In dieser Beziehung bestehen ganz erhebliche individuelle Unterschiede.

Parenteral, intramuskulär oder intravenös hat sich das Protoveratrin bei der Behandlung von Hochdruckkrisen sowie bei der Schwangerschaftstoxämie bewährt. Allerdings wird es in der letzten Zeit vom Reserpin schon durch dessen leichtere Handhabung mehr und mehr verdrängt, dann aber auch deshalb, weil bei einer großen Zahl von Patienten das Protoveratrin keine befriedigende Wirkung zeigt. Da bei einigen Patienten aber manchmal erstaunlich gute Ergebnisse zu beobachten sind, sollte immer, ehe man vom Reserpin auf differentere Mittel übergeht, ein zeitlich begrenzter Versuch mit dem Protoveratrin gemacht werden (Arnold). Am besten wird es in 3—4 Einzelgaben verabreicht, beginnend mit 1 Tablette zu 0,25 mg und langsamer Erhöhung. Die neuerdings propagierten Retard-Präparate, welche die Wirkung der Einzeldosis auf etwa 6 Std verlängern, haben aber auch keine Verminderung der Unzuverlässigkeit der Wirkung bei den einzelnen Patienten gebracht. Zu beachten sind bei der Wahl des Präparates die Feststellungen von Winer, der fand, daß die Nausea-erzeugende Dosis von Protoveratrin A wesentlich niedriger liegt als von Protoveratrin B. Mit täglichen Dosen zwischen 10 und 15 mg Protoveratrin B erzielte er bei Hypertonien eine wesentliche Senkung des Blutdrucks ohne Erbrechen, während bei Protoveratrin A mit einer Dosierung zwischen 0,4 und 1,4 mg mit der Senkung des Blutdrucks auch Erbrechen auftrat.

Wenn ich im Vorangehenden versucht habe, Ihnen kurz die Situation der Pharmako-Therapie des Hochdrucks von rein klinischen Gesichtspunkten darzustellen, so wäre es im Folgenden meine Aufgabe, die Frage zu erörtern, welche hämodynamischen Veränderungen mit der Blutdrucksenkung einhergehen und ob diese Veränderungen wünschenswert oder unter Umständen bedenklich sind.

a) Das Herzzeitvolumen (HZV). Zuverlässige Messungen des HZV unter der Behandlung mit *Rauwolfia*-Alkaloiden und Veratrum waren mir in der Literatur nicht zugänglich. Nach *Apresolin* wurden bei Hypertonikern Erhöhungen des HZV (Ficksches Prinzip mittels Herzkatheterisierung) um durchschnittlich 20% gefunden, während die Steigerungen des HZV bei Normalen erheblich höher sind und das Doppelte der Norm erreichen (Wilkinson, Backmann u. Hecht, Moyer). Solche akuten Versuche, wie sie hier beschrieben sind, bleiben aber in ihren Konsequenzen für die Dauerbehandlung der Hypertonie, auf die es letzten Endes ankommt, sehr problematisch. Das gleiche gilt für die vorliegenden Untersuchungen des HZV mit *ganglienblockierenden* Substanzen. Daß bei akut und abrupt auftretenden Senkungen des Blutdrucks das HZV absinkt und eine Blutverlagerung in das Niederdruckgebiet des venösen Kreislaufs stattfindet (Freis u. Mitarb., Gillmore u. Mitarb., Werkö u. Mitarb., May u. Mitarb.) besagt in

keiner Weise, daßein solcher Mechanismus auch für die eintretende Blutdrucksenkung bei therapeutischer Dauerbehandlung verantwortlich zu machen ist. Um sobemerkenswerter sind daher die vorliegenden Messungen des HZV bei medikamentöser Blutdrucksenkung durch kombinierte Behandlung mit Hydrazinophthalazinen (oral) und Hexamethonium (subcutan) im therapeutischen Versuch (Mader u. Iseri). Nach diesen Untersuchungen bleibt das Kreislaufminutenvolumen trotz wesentlicher Senkung des Blutdrucks weitgehend unverändert. Danach besteht die therapeutische Wirkung dieser Stoffe in einem erwünschten Absinken des peripheren Strömungswiderstandes. Bemerkenswert ist noch, daß in diesen Untersuchungen eine Steigerung der Nierendurchblutung ohne entsprechenden Anstieg des HZV festgestellt wurde.

b) Gehirndurchblutung. Bei therapeutischen Untersuchungen über die Veränderungen der Gehirndurchblutung nach blutdrucksenkenden Pharmaka müßte sinngemäß eine Unterteilung in 2 Gruppen erfolgen. Die erste Gruppe umfaßt jene Patienten, bei denen die Hypertonie noch nicht zu deutlichen sklerotischen Veränderungen der Hirngefäße geführt hat. Hirndurchblutung und Sauerstoffverbrauch des Hirngewebes sind bei diesen Patienten normal. Bei den Patienten der zweiten Gruppe mit einer starken Arteriolosklerose der Hirngefäße findet sich dagegen eine Verminderung der cerebralen Durchblutung und des O_2-Verbrauchs des Gehirngewebes (Literatur siehe unter Bodechtel). Die vorliegenden Untersuchungen zeigen, daß bei der ersten Gruppe nach Apresolin, nach Dihydroergocornin, nach Protoveratrin und nach Sympathektomie bei absinkendem Blutdruck die Gehirndurchblutung, der O_2-Verbrauch des Gehirns und die venöse Sauerstoffsättigung des Gehirnblutes unverändert bleiben (Hafkenschiel u. Friedland). Hier tritt also das erwünschte Absinken des Strömungswiderstandes im Bereich der Gehirngefäße ein. Diese Feststellungen dürfen aber nicht ohne weiteres auf die Patienten der zweiten Gruppe übertragen werden. Allein die klinische Beobachtung zeigt, daß in solchen Fällen plötzliche Drucksenkungen nachteilige Wirkungen auf den Gehirnkreislauf nach sich ziehen. Bei Patienten mit Cerebralsklerose und Hochdruck muß daher die Senkung des Blutdrucks besonders vorsichtig erfolgen.

c) Der Coronarkreislauf. Messungen der Coronardurchblutung und des Sauerstoffverbrauches des Herzens sind mir nach medikamentösen Maßnahmen bei Hochdruck nicht bekannt. Wenn nachteilige Herzsensationen auch bei stärkeren Blutdrucksenkungen im allgemeinen vermißt werden, so dürfte dies in erster Linie an der wesentlichen Verminderung der Herzarbeit liegen, die allein durch die Drucksenkung bedingt wird und daher an die Coronardurchblutung wesentlich geringere Anforderungen stellt.

d) Nierendurchblutung. Die Veränderungen der Nierendurchblutung unter der Pharmako-Therapie erfordern das größte Interesse. Unter *Serpasil* tritt im akuten Versuch ein mäßiges, relativ gleichsinniges Absinken des effektiven Nierenplasmastromes und des Glomerulusfiltrates ein. Die Filtrationsfraktion bleibt unverändert. Wichtiger als diese akuten Versuche sind die Feststellungen bei Dauerbehandlung mit Serpasil: Trotz erheblicher Senkungen des Blutdrucks sinken der effektive Nierenplasmastrom und das Glomerulusfiltrat bei essentiellen Hypertonien, bei Übergangsformen und malignen Hypertonien nur wenig und zumeist gleichsinnig ab (Moyer u. Mitarb.). Auch wurden geringfügige Anstiege des Plasmastromes beobachtet.

Bei den *Hydrazinophthalazinen* wird immer wieder besonders auf eine Steigerung des Nierenplasmastromes hingewiesen, die als günstiges Zeichen aufgefaßt wird. Der Anstieg des Nierenplasmastromes erfolgt sowohl bei unveränderten Kreislaufverhältnissen als auch bei Senkung des systolischen und diastolischen Blutdrucks (Schwalb u. Schimmler). Es scheint mir wesentlich, auf die Diskrepanz zwischen dem Ansteigen des Nierenplasmastromes und dem Absinken des Glomerulusfiltrates hinzuweisen. Das Glomerulusfiltrat zeigt eine auffällige Abhängigkeit vom arteriellen Blutdruck, ebenso das Harnvolumen und die Chloridausscheidung. Bei Abfall des Blutdrucks nimmt das Glomerulusfiltrat und die Harnausscheidung trotz gleichzeitiger Durchblutungszunahme ab. Die Filtrationsfraktion ist deutlich erniedrigt. Mader und Iseri fanden, daß Patienten mit arteriolosklerotischen Veränderungen auch nach Hydrazinophthalazinen eine deutliche Verminderung des renalen Plasmastromes aufwiesen. Zwei Patienten zeigten einen rapide fortschreitenden Verlauf und starben bald. Die Sektion deckte eine fortgeschrittene nekrotisierende renale Arteriolitis auf.

Bei den *ganglienblockierenden* Substanzen tritt im akuten Versuch in der Regel eine Verminderung des Nierenplasmastromes und eine Abnahme des Glomerulusfiltrates auf. Parallel damit geht eine entsprechende Verminderung der Na- und H_2O-Ausscheidung, weniger deutlich auch der Kaliumausscheidung, einher (Morris u. Mitarb., Moyer u. Mitarb., Schwalb, Schimmler). Die Verminderung des Nierenplasmastromes wird nach etwa 2 Std von einer leichten Erhöhung abgelöst, ohne daß zu dieser Zeit die Filtrationsmenge und der Blutdruck schon wieder angestiegen sind (Morris u. Mitarb.).

Bei langdauernder therapeutischer Verabreichung von *Pentapyrolidinium* fand sich im Liegen keine Verminderung des Nierenplasmastromes, der Glomerulusfiltration und der tubulären Exkretion. Das gleiche gilt für das Hexamethonium. Unter körperlicher Bewegung dagegen wurde eine Verminderung der Glomerulusfiltration und des Nierenplasmastromes bei gleichzeitigem Blutdruckabfall festgestellt.

Ebenso waren Wasser-, Natrium- und Kalium-Ausscheidung eingeschränkt. Bei diesen Untersuchungen waren die Veränderungen nicht so ausgesprochen, daß sie bereits zu einer Störung der Ausscheidung der Stickstoff-Substanzen bzw. einer Retention von Natrium und Wasser geführt hätten (Stover u. Mitarb.). Immerhin sind diese Feststellungen und eigene klinische Beobachtungen dazu angetan, gerade bei der Behandlung fortgeschrittener Hypertonien mit ganglienblockierenden Substanzen vorsichtig zu Werke zu gehen, um eine *allmähliche* Blutdrucksenkung zu erreichen. Eine dauernde Kontrolle der Nierenfunktion ist unerläßlich. Dadurch wird die ambulante Therapie des Hochdrucks eingeschränkt, genaue klinische Einstellung und zwischenzeitliche stationäre Überwachung sind notwendig. Die jüngst veröffentlichten Beobachtungen von Abrahams u. Wilson unterstreichen diese Forderung eindrücklich. Deutliche Einschränkungen des Glomerulusfiltrates und Erhöhungen der Schlackenstoffe im Blut lassen eine Therapie mit ganglienblockierenden Substanzen im allgemeinen als kontraindiziert erscheinen.

So eindeutig der blutdrucksenkende Effekt einer Substanz auf die Hypertonie bei entsprechender Methodik (Martini) nachweisbar und belegbar ist, so schwer ist der *Nachweis einer Besserung der Lebensprognose* der behandelten Hypertonie. Hiermit kommen wir zu der letztlich erst entscheidenden Frage der Therapie der Hypertonie.

Die besonderen Schwierigkeiten liegen darin begründet, daß zur Beantwortung dieser Frage entsprechende Vergleichskollektive über lange Beobachtungszeiten zur Verfügung stehen müssen. Wichtig ist hierbei vor allem die Aufschlüsselung des Krankengutes nach dem Schweregrad der Hypertonie, dem Geschlecht, dem Alter und der Beobachtungsdauer. Bechgard, Kopp u. Nielsen haben auf dem 3. Internationalen Kongreß für Innere Medizin 1954 in Stockholm über ihre Nachbeobachtungen bei 1000 unbehandelten Hypertonikern berichtet, die nach den obigen Gesichtspunkten vorgenommen wurden, und damit eine wichtige Grundlage für die Beurteilung der Prognose unbehandelter und behandelter Hypertonien geliefert.

Daß die Blutdrucksenkung für die Prognose einer Hypertonie eine entscheidende Bedeutung hat, geht aus den Vergleichsserien hervor, die Mustakallio auf dem 3. Internationalen Kongreß für Innere Medizin 1954 in Stockholm über die Erfolge der Sympathektomie gab. Den operierten Fällen wird als Vergleichsserie das Krankengut von Hammerström u. Bechgaard sowie von Leishman gegenübergestellt. In Tab. 4 sind dieser Vergleichsserie die Daten der operierten Fälle gegenübergestellt, die im wesentlichen mit den im deutschen Schrifttum vorliegenden Berichten übereinstimmen, allerdings mit weniger überzeugenden Erfolgen (Pfeffer u. Mitarb.).

Den von Hammerström-Bechgaard berichteten Fällen liegt eine Unterteilung des Krankengutes nach der bekannten in Deutschland von Thiel angegebenen Klassifizierung der Hypertonie zugrunde. Während die nicht operierten Patienten der Gruppe IV nach Abschluß der Beobachtungszeit (2—10 Jahre) praktisch alle verstorben sind, zeigt sich bei den operierten Patienten derselben Gruppe eine Sterblichkeit von etwa 50—60%. Je weniger ausgeprägt die Hypertonie ist, um so wenigereindeutig wird der lebensverlängernde Effekt der operativ erzielten Blutdrucksenkung. Dasselbe Bild ergibt sich

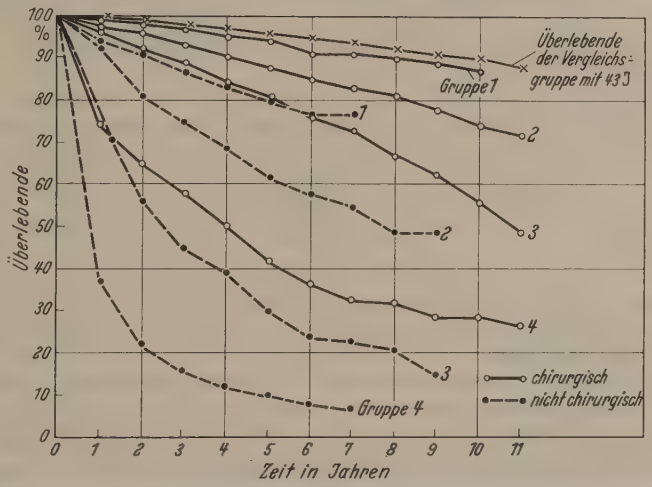


Abb. 4. Überlebenskurven von 1506 operierten und 564 nicht operierten Patienten mit Hypertonie. (Gruppierung nach der Einteilung von Smithwick)

aus den Beobachtungen Leishmans. Bei nur mäßig erhöhtem diastolischem Blutdruck ist kein merklicher Unterschied zwischen nicht operierten und operierten Patienten festzustellen, die Gruppe mit den höchsten diastolischen Wertenzeigt den offensichtlichsten Effekt. In übersichtlicher Form werden diese Verhältnisse durch Abb. 4 demonstriert, die das große Untersuchungsgut von Smithwick wiedergibt und die oben aufgeführten Ergebnisse im wesentlichen bestätigt.

Die Beobachtungszeiten der beiden Kontrollserien betragen für die schwedisch-dänische Serie (Hammerström-Bechgaard) 2—10 Jahre, für das englische Material (Leishman) $2^1/_2$—5 Jahre; die Beobachtungszeiten der beiden Serien operierter Fälle für das dänische Material 1—14 Jahre, für das finnische Material 1—10 Jahre.

Abb. 4 (nach Smithwick) zeigt im Vergleich zur normalen Bevölkerung die Überlebenszeiten von 1506 chirurgisch behandelten Hypertonikern und 564 nicht operierten Hypertonikern; die Einteilung

in die 4 Gruppen entspricht im wesentlichen der von Thiel gegebenen Einteilung.

Diese Resultate sind in zweierlei Richtung von Bedeutung:

1. Sie unterstreichen die Notwendigkeit, Patienten mit fortgeschrittener Hypertonie, respektive schlechter Prognose unter allen Umständen einer Behandlung zu unterziehen mit dem Ziel der Blutdrucksenkung.

Tabelle 4. *Hammerström-Bechgaard: Nicht operierte Hypertonien:*

	Gruppe IV		Gruppe III		Gruppe II	
	Männer	Frauen	Männer	Frauen	Männer	Frauen
Zahl der Fälle .	69	25	83	94	42	122
Todesfälle . .	68	24	57	44	9	21

Sympathektomierte Fälle (der Neurochirurgischen Abteilung des Reichshospitals):

	Gruppe IV		Gruppe III		Gruppe II	
	Männer	Frauen	Männer	Frauen	Männer	Frauen
Zahl der Fälle .	102	106	152	236	33	82
Todesfälle . .	59	45	55	43	6	3

Anmerkung: Gruppe IV: Patienten mit maligner Hypertension mit ausgesprochenem Netzhautödem mit oder ohne Papillenödem mit oder ohne Netzhautblutungen und progressivem Verlauf.

Gruppe III: Patienten mit Zeichen cardio-renal-vasculärer Erkrankungen.

Gruppe II: Patienten mit diastolischem RR von mindestens 110 mm Hg und ausgesprochenen Symptomen wie Kopfschmerz, Benommenheit, Müdigkeit, aber ohne offensichtliche Zeichen cardio-renal-vasculärer Erkrankungen.

Leishman: Nicht operierte Fälle (diastolischer Blutdruck > 100 mm Hg)

	Männer	Frauen	Männer	Frauen	Männer	Frauen
	diast. RR	100—119	RR	120—129	RR	130 u. mehr
Zahl der Fälle .	18	39	16	17	24	37
Todesfälle . .	1	4	7	5	19	15

Sympathektomierte Fälle (Finnisches Rot-Kreuz-Hospital)

	Männer	Frauen	Männer	Frauen	Männer	Frauen
Zahl der Fälle .	8	15	13	31	22	46
Todesfälle . .	1	1	2	4	7	12

Da anzunehmen ist, daß bei Nichtbehandlung einer Hypertonie in nur sehr wenigen Fällen eine spontane Rückbildung und Normalisierung des Hochdruckleidens zu erwarten ist (etwa 5% aller Hypertonien) (Bechgaard, Kopp u. Nielsen), sollte das weitere Fortschreiten der druckbedingten Gefäßveränderungen durch medikamentöse Behandlung soweit wie möglich verzögert oder gar verhindert werden.

2. Der Nachweis einer durch medikamentöse Behandlung erzielten verbesserten Lebenserwartung setzt die Auswahl eines geeigneten

Untersuchungsmaterials voraus. Bei leichten Formen der Hypertonie (Gruppe II, respektive diastolische Werte zwischen 100—120 mm Hg) werden die Unterschiede so geringfügig sein, daß über eine Beobachtungszeit von 10—15 Jahren keine signifikanten Differenzen festzustellen sind. Dies soll natürlich nicht heißen, daß bei den leichteren Hypertonieformen eine Behandlung mit dem Ziel der Herabsetzung der Normalisierung des Blutdrucks nicht angezeigt wäre.

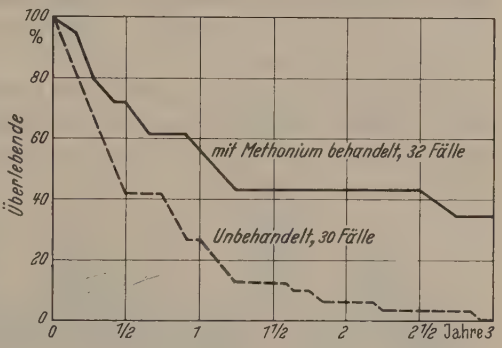


Abb. 5

Überblickt man das Schrifttum über Berichte medikamentös-therapeutischer Effekte bei der Hypertonie im Hinblick auf die Lebensverlängerung, so finden sich bisher nur sehr wenige Angaben. McMichael hat auf dem letzten europäischen Cardiologenkongreß in Stockholm über seine Erfahrungen mit der Methonium-Behandlung berichtet. (Die folgenden Angaben sind einer Arbeit im J. Chron. Disease 1, 1955 entnommen.) Bei schweren bzw. malignen Hypertonien konnte er eine günstige Beeinflussung druckbedingter Komplikationen feststellen, und zwar am deutlichsten bei der Retinitis, weiterhin bei Herzdekompensation sowie bei den subjektiven Beschwerden (Kopfschmerzen). Eine Rückbildung encephalopathischer Veränderungen sowie organischer Gefäßveränderungen (Neigung zu Thrombosen, Hirnblutungen und Ausbildung eines Aneurysma dissecans) konnte bisher nicht erwiesen werden. Sicher nicht beeinflußt werden konnten Komplikationen wie Cerebralsklerose, Verwirrtheitszustände, Nierenschädigungen sowie progressive ausgedehnte Nierenarteriolonekrose mit rasch fortschreitender Urämie. Beim Vorliegen einer schon bereits länger bestehenden Hypertonie (8 Jahre oder mehr) ist bei Patienten über 65 Jahren wegen der meist bereits ausgeprägten organischen Gefäßveränderungen keine lebensverlängernde Wirkung der Therapie mehr zu erwarten, worauf auch bereits Burgers hingewiesen hat. Die Patienten, bei denen der überzeugendste lebensverlängernde Effekt zu beobachten ist, umfassen etwa folgende Gruppe:

Alter: 30—55 Jahre, mehr oder weniger ausgeprägte Retinitis hypertensiva, deutliche Zeichen von Herzüberlastung. Fehlen stärkergradiger arteriosklerotischer Veränderungen wie Angina pectoris oder cerebrale vasculäre Insulte und Fehlen von Einschränkung der Nierenfunktion.

Bei diesen Patienten konnte durch Methonium-Behandlung eine verbesserte Lebenserwartung erzielt werden, welche in Abb. 5 demonstriert wird.

Die 32 mit Methonium behandelten Patienten sind einer Gruppe von 30 Patienten gegenübergestellt, die in ihren Symptomen der Versuchsgruppe in jeder Hinsicht entsprechen, die aber nicht behandelt wurden. Die hohe Mortalität der Versuchsgruppe während der ersten $1^1/_2$ Jahre der Beobachtung ist hauptsächlich auf fortschreitende Urämie zurückzuführen; dabei war bei keinem der Patienten der Rest-N zu Beginn der Therapie über 100 mg% erhöht.

Überblickt man die Möglichkeiten einer medikamentösen Therapie der Hypertonie, so gibt die schaubildartige Darstellung von Wilkins ein zwar vereinfachtes, aber doch einprägsames Schema:

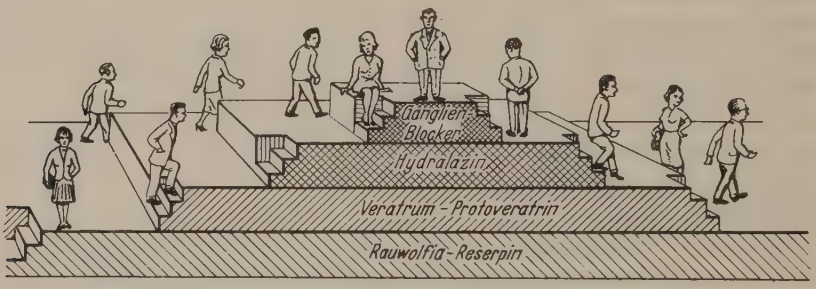


Abb. 6. Die Stufen der medikamentösen Behandlung der essentiellen Medizin

Die Prototypen der 4 uns zur Verfügung stehenden Pharmaka sind:

1. Rauwolfia, 2. Veratrum, 3. Hydralazine, 4. Hexamethonium, wobei diese Reihenfolge auch der Anwendung von den mildesten zu den schwersten Hypertonie-Formen entspricht.

Die Rauwolfia ist höchst wirksam gegen die subjektiven Beschwerden wie Kopfschmerzen, Nervösität, Schwindel, Herzpalpitation und Schlaflosigkeit. Ihre Wirkung auf den Blutdruck ist langsam beginnend (3 bis 7 Tage) und kann das Maximum unter Umständen erst nach 3 bis 6 Wochen erreichen. Ihr Hauptanwendungsgebiet ist die mittelgradig ausgeprägte, labile Hypertonie.

Kann durch Rauwolfia allein keine merkliche oder gar keine Blutdruckreaktion erzielt werden bei guter Wirkung auf die Pulsfrequenz (Absinken auf Werte unter 80 oder gar 70 min), so empfiehlt sich die Kombination mit Hydralazinen. Zeigt dagegen neben der unzureichenden Blutdruckwirkung auch die Pulsfrequenz keine merkliche Veränderung, so ist die Kombination mit Veratrum (Protoveratrin B) in Erwägung zu ziehen. Das Hexamethonium bzw. die übrigen ganglienblockierenden Substanzen sollten bei der „benignen" Hypertonie erst dann angewendet werden, wenn mit den drei anderen Gruppen (in Kombination!) kein

Effekt zu erzielen ist. Bei maligner Hypertonie sollten die ganglienblockierenden Substanzen allerdings von Anfang an wegen der Notwendigkeit einer raschen und ausgiebigen Blutdrucksenkung Anwendung finden. Hier scheint die Kombination von ganglienblockierenden Stoffen mit Reserpin oder Hydralazin günstige Resultate zu zeitigen (Edwards).

Überschauen wir die Ergebnisse der Pharmakotherapie des Hochdrucks der letzten 10 Jahre, so kann es keinem Zweifel unterliegen, daß die medikamentöse Behandlung des Hochdrucks Erfolge aufzuweisen hat. Trotzdem müssen die erzielten Ergebnisse als bisher unbefriedigend bezeichnet werden. Wir werden uns noch so lange im Stadium der reinen Empirie befinden, als wir über die Pathogenese des Hochdrucks noch so wenig Konkretes wissen. Die Entdeckung des Serotonins hat in jüngster Zeit der Erforschung des Hypertonie-Problems wieder einen neuen Impuls gegeben. Aber mit den stofflichen Interpretationen der Entstehung des Hochdrucks sind wir sehr vorsichtig geworden, nachdem durch 30 Jahre intensivster Forschungsarbeit so wenig Greifbares erzielt werden konnte. Immerhin wird es in diesem Kreise interessieren, daß die Verabfolgung von Anti-Serotonin (das Benzyl-Analogon des Serotonins = BAS, Wooley) Wirkungen beim Hypertoniker hervorruft, die denen des Reserpins ähnlich sind. (Senkung des Blutdrucks, Beruhigung, Bradycardie, gesteigerte Darmtätigkeit, verstopfte Nase.) Nach den Untersuchungen von Wilkins u. Hollander blockiert Bas die pressorischen und hyperpnoischen Effekte von i.v. verabreichtem Serotonin. Bei oraler Gabe (10—50 mg 4mal täglich) wurde bei lang dauernder Darreichung über mehrere Wochen und Monate bei einem Drittel der beobachteten Hypertoniker ein leichter blutdrucksenkender Effekt beobachtet. Trotzdem eine gewisse Ähnlichkeit mit der Reserpin-Wirkung besteht, muß es vorläufig dahingestellt, ja fragwürdig bleiben, ob die therapeutische Wirkung des Reserpins tatsächlich auf einem „Antiserotonin-Effekt" basiert. Aber auch Hypothesen können sich als fruchtbar erweisen, wenn sie nicht aus der Luft gegriffen sind, möge auch das Bild, das sich später entwickelt, ganz anders aussehen, als es zunächst im Entwurf erscheinen mag.

Literatur

Abrahams, D. G., and C. Wilson: Lancet **1957**, 68. — Allen, F. M.: J. Amer. Med. Assoc. **74**, 652 (1920). — Allen, F. M., and J. W. Sherrill: J. Metabolic Res. **2**, 429 (1922). — Ambard, L., et Beaugard: Arch. gén. méd. (Paris) **1**, 520 (1904). — Appelhans, M., K. Kaiser, E. Waterloh u. E. Welte: Dtsch. med. Wschr. **1954**, 1401. — Arnold, O. H.: Dtsch. med. Wschr. **1955**, 1489. — **1956**, 1984. — Arnold, O. H., u. K. D. Bock: Dtsch. med. Wschr. **1953**, 565 u. 879. — Bär, C. G., u. E. F. Ludwig: Med. Klin. **1956**, 2214. — Bechgaard, P., H. Kopp u. J. Nielsen: Acta med. scand. (Stockh.) **154**, suppl. 312, 175 (1956). — Bodechtel, G.: Verh. dtsch. Ges. Kreisl.-Forsch. **1953**, 109. — Böhm, P., A. Füngers u. K. Kaiser: Ärztl. Wschr. **1955**, 288. — Burgers, A. M.: New Engl. J. Med. **239**, 75 (1948). — Edwards, J. C.: Circulation (New York) **14**, 951 (1956). — Eichler, O.,

E. Klar u. F. Linder: Klin. Wschr. **1948**, 715; **1949**, 710. — Essellier, A. F., W. Lüscher u. L. Morandi: Schweiz. med. Wschr. **1955**, 340. — Fishberg, A. M.: J. Amer. Med. Assoc. **137**, 670 (1948). — Flügel, F., u. D. Bente: Dtsch. med. Wschr. **1956**, 2071. — Ford, R. V., J. C. Madison and I, H. Mayer: Amer. J. Med. Sci. **232**, 129 (1956). — Freis, E. D., E. A. Partenope, T. F. Higgins, R. T. Kelley, H. W. Schnaper and R. L. Johnson: J. Clin. Invest. **32**, 1285 (1953). — Freis, E. S., J. C. Rose, F. A. Finnerty and E. A. Partenope: J. Clin. Invest. **32**, 569 (1953). — Freis, E. D., J. C. Rose, T. F. Higgins, R. T. Kelley, H. W. Schnaper and R. L. Johnson: J. Clin. Invest. **31**, 629 (1952). — Füngers, A., u. K. Kaiser: Dtsch. med. Wschr. **1956**, 304. — Gillmore, H. R., H. Kopelman, I. McMichael and I. F. Milne: Lancet **1952**, 2, 898. — Gross, F., I. Druey u. R. Meier: Experientia (Basel) **6**, 19 (1950). — Hafkenschiel, J. H.: Pensylv. Med. J. **55**, 120 (1952). — Hafkenschiel, J. H., and C. K. Friedland: J. Clin. Invest. **31**, 635 (1952). — Hammerström, S., and P. Bechgaard: Amer. J. Med. Sci. 1 (1950). — Hauss, W. H., H. Kreuziger u. H. Asteroth: Dtsch. med. Wschr. **1949**, 1470. — Heintz, R., u. H. Losse: Dtsch. med. Wschr. **1954**, 1448. — Jorgensen, G.: Dtsch. med. Wschr. **1953**, 1433. — Kaiser, K.: Habilitationsschrift, Düsseldorf 1956. — Kaiser, K., u. P. Martini: Dtsch. med. Wschr. **1950**, 1516, 1566. — Kemper, W.: Amer. J. Med. **4**, 545 (1948); **31**, 821 (1949). — Kühns, K., H. Liebeskind u. W. Müller: Ärztl. Wschr. **1956**, 1053. — Leishman, A. W. D.: Brit. Med. J. **1**, 1131 (1953). — McMichael, I., and E. A. Murphry: J. Chron. Diseases **1**, 527 (1955). — Mader, I. J., and L. T. Iseri: Amer. Heart J. **50**, 556 (1955). — Martini, P.: Dtsch. Arch. klin. Med. **183**, 109 (1938/39). — Methodenlehre der therapeutisch-klinischen Forschung. 3. Aufl. Berlin und Heidelberg: Springer 1953. — Martini, P., and K. Kaiser: Ciba Foundation Symposium, London 1954. Hypertension; Humoral and neurogenic factors. — May, L. G., A. Bennett, R. Gregory, Shih Juan Tsai and M. Lyem-Schoomer: J. Labor. a. Clin. Med. **34**, 1622 (1949). — Morris, G. C., J. H. Moyer, H. B. Snyder and B. W. Haynes: Ann. Surg. **138**, 706 (1953). — Moyer, I. H., and C. A. Handley: J. Labor a. Clin. Med. **36**, 969 (1950). — Moyer, I. H., R. A. Huggins, C. A. Handley and L. C. Mills: J. Pharmacol. a. Exper. Ther. **106**, 157 (1952). — Moyer, I. H., and L. C. Mills: J. Clin. Invest. **32**, 172 (1953). — Mustakallio, M.: Acta med. scand. (Stockh.) **154**, supp. 312, 227 (1956). — Page, J. H.: J. Amer. Med. Assoc. **147**, 1311 (1951). — Page, J. H., R. D. Taylor a. A. C. Corcoran: Medizinische **1952**, 1115. — Peet, M. M., and E. H. Isberg: New England J. Med. **240**, 319 (1949). — Pfeffer, K. H., H. Nieth u. H. Schneider: Dtsch. med. Wschr. **1955**, 956. — Reubi, F.: Helvet. med. Acta **16**, 297 (1949). — Proc. Soc. Exper. Biol. a. Med. **73**, 102 (1950). — Schimmler, W., u. H. Schwalb: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **221**, 177 (1954). — Schmid, A., u. F. C. Reubi: Helvet. med. Acta **17**, 543 (1950). — Schroeder, H. A.: 24th Scientific Sessions of the American heart Association. Atlantic City. 8.—9. June, 1951. — Circulation (New York) **5**, 28 (1952) 1951. — J. Labor. a. Clin. Med. 38, 949. — Schwalb, H.: Dtsch. med. Wschr. **1954**, 1409. — Schwalb, H., u. W. Schimmler: Klin. Wschr. **1955**, 921. — Smirk, F. H.: New Zealand M. J. **49**, 638 (1950). — Medizinische **1955**, 485. — Smithwick, R. H.: Adv. Surg. **2**, 81 (1949). — J. Chron. Disease **1**, 477 (1955). — Stover, H. W., R. W. Griffin and R. V. Ford: Amer. Int. Med. **44**, 893 (1956). — Thiel, R.: Dtsch. med. Wschr. **1950**, 1495. — Volhard, F.: Schweiz. med. Wschr. **1948**, 1189, 1224. — Werkö, L., A. R. Frisk, F. Wade and H. Eliasch: Lancet **1951**, 2, 470. — Wilkins, R. W.: J. Chron. Diseases **1**, 563 (1955). — Wilkins, R. W., and W. Hollander: Circulation (New York) **14**, 1018 (1956). — Wilkinson, E. L., H. Bockman and H. H. Heelt: J. Clin. Invest. **31**, 872 (1952). — Winer, B. M.: Circulation (New York) **14**, 137 (1956).

Diskussion

R. Muschaweck (Frankfurt/Main-Höchst): Herr Gross hat in seinem Vortrag über den Vergleich der blutdrucksenkenden Substanzen mit Recht auf die Untersuchungen am normotonen Tier hingewiesen. Auch wir haben eine Reihe von W. Keil † synthetisierten quaternären Ammoniumverbindungen (s. Tabelle) auf ihre

Tabelle 1. *Toxicitätsbestimmungen an der Maus*

Substanz	DL_{50} mg/kg i. v.	DL_{50} mg/kg s. c.	DL_{50} mg/kg p. o.
1,4-Tetramethylen-bis-(N-methylpyrrolidinium)-dibromid	41,0	190,0	1450,0
1,4-Tetramethylen-bis-(N-äthylpyrrolidinium)-dibromid	26,0	105,5	775,0
1,5-Pentamethylen-bis-(N-methyl-pyrrolidinium-dibromid (Ansolysen)	19,5	43,0	520,0
1,5-Pentamethylen-bis-(N-äthylpyrrolidinium)-dibromid P 271	18,25	31,0	510,0
1,4-Tetramethylen-bis-(pyridinium)-dibromid	110,2	212,5	2750,0
1,5-Pentamethylen-bis-(pyridinium)-dibromid	37,25	126,0	1025,0
1,4-Tetramethylen-bis-(N-methylpiperidinium)-dibromid	33,0	73,5	825,0
1,4-Tetramethylen-bis-(N-äthylpiperidinium)-dibromid	21,0	135,0	1000,0
1,5-Pentamethylen-bis-(piperidinium)-dihydrobromid	87,5	140,0	1300,0
1,5-Pentamethylen-bis-(N-methylpiperidinium)-dibromid	18,0	30,0	250,0
1,5-Pentamethylen-bis-(N-äthylpiperidinium)-dibromid P 272	14,5	38,0	275,0
1,5-Pentamethylen-bis-(N-n-butylpiperidinium)-dibromid	10,0	34,0	450,0
1,5-Pentamethylen-bis-(N-sec.-butylpiperidinium)-dibromid	60,0	125,0	420,0
1,5-Pentamethylen-bis-(chinolinium)-dibromid	3,8	10,0	

akute Toxicität und hinsichtlich ihres Verhaltens auf den arteriellen und venösen Blutdruck, auf die quergestreifte und glatte Muskulatur sowie hinsichtlich der Beeinflussung der Urinsekretion untersucht. Diese quaternären Verbindungen senkten in Dosen von 0,5—2,0 mg i.v. durchschnittlich im akuten Experiment den Blutdruck erheblich. Erst allmählich, oft nach Stunden, kehrt dieser wieder zum Ausgangswert zurück.

Zwei besonders eindrucksvolle Unterschiede sind uns allerdings aufgefallen, nämlich:

1. Während nach Injektion des Handelspräparates 1,5-Pentamethylen-bis-(N-methylpyrrolidinium)-dibromid (M & B 2050, Ansolysen Pentolinium) im allgemeinen

ein momentaner, rapider Blutdruckabfall mit unmittelbar anschließendem reaktivem Blutdruckanstieg bis zu einem Mittelwert erfolgt, verhalten sich die von uns untersuchten zum Teil neuen Körper (P 271), 1,5-Pentamethylen-bis-(methylpiperidinium)-dibromid und (P 272) 1,5-Pentamethylen-bis-(äthylpiperidinium)-dibromid sowie 1,4-Tetramethylen-bis-(N-ätyhlpyrrolidinium)-dibromid und 1,4-Tetramethylen-bis-[N-äthylpiperidinium]-dibromid günstiger, indem sie den Blutdruck bei mindestens gleichem Wirkungsgrad wesentlich langsamer senken. Die plötzlich eintretende über das gewünschte Ziel hinausschießende Blutdrucksenkung mit unmittelbar nachfolgendem Blutdruckanstieg bedeutet für den Kreislauf natürlich eine besonders starke Beanspruchung. Die über eine längere Zeitdauer ablaufende Blutdrucksenkung stellt auch gegenüber der abrupten Wirkungsweise anderer quaternärer Ammoniumverbindungen wie Penta- und Hexamethonium und ähnliches einen Vorteil dar. So resultiert hieraus als 2. Punkt: der Venendruck, ein Kriterium der Kreislaufbelastung) wird durch unsere Substanzen nicht so stark zum Ansteigen gebracht, wie dies z. B. bei anderen von uns geprüften Substanzen der Fall ist.

Bei Pentamethonium bzw. Hexamethonium trat überdies nach i.v. Gabe von 10 mg/kg akuter Kreislaufkollaps auf, von dem sich das Tier kaum mehr erholt. Ähnliches sahen wir auch nach hohen Dosen von Rauwolfia-Alkaloiden.

Alle untersuchten Methoniumverbindungen beeinflußten die Atmung nicht. Sie besitzen jedoch ganglienblockierende Eigenschaften, die sich besonders in einer Minderung der Magenmotilität (Tonusherabsetzung und Lähmung der glatten Muskulatur) äußern. Eine Abnahme der Arbeitsleistung der quergestreiften Muskulatur (wie sie bei der elektrisch direkt gereizten Vorderpfote der Katze registriert wurde) konnte in den bereits blutdrucksenkenden Dosen am Masseterpräparat der Ratte nicht beobachtet werden. (Vermutlich spielt bei der Katze die besondere Haltung der Pfote nach oben und die damit herabgesetzte Blutversorgung eine Rolle.)

Bei einem Blutdruckabsturz auf unter 80 mm Hg (auf etwa ein Drittel des Ausgangswertes) kommt es bei der Katze zu einer Verminderung der Urinsekretion infolge des herabgesetzten Kreislaufs. Sobald der Kreislauf 100 mm Hg erreicht, wird die Urinausscheidung wieder normalisiert. Die gleichen Beobachtungen wurden neuerdings bei Ansolysen und anderen blutdruckwirksamen Substanzen auch klinisch erhoben.

Man kann demnach eine Reihe kritischer Kreislaufvorgänge auch am normotonen narkotisierten Tier prüfen und gewisse Rückschlüsse aus diesen Beobachtungen in therapeutischer Hinsicht ableiten.

H. Friebel (Bonn): Herr Gross zieht die plethysmographische Druckmessung an der Ratte photoelektrisch oder akustisch übertragenden Systemen vor, weil die plethysmographische Methode einfacher ist.

Wir haben die Druckmessung mit einem akustischen System so weit vereinfacht, daß man auch hiermit bequem, schnell und relativ genau arbeiten kann. Die Abnahme der Pulswelle erfolgt mit einem Gerät, das auf einer Grundplatte einen Drehkörper mit 3 Auslegern trägt. Jeder wird mit einem Tierbehälter besetzt, aus dem der Rattenschwanz herausragt. Die Schwanzwurzel wird in ein aufklappbares Kästchen eingelegt, in dem sie sich zwischen 2 Gummifingerlingen befindet. Aufgeblasen bilden diese die Druckmanschette. Ein Kondensatormikrophon nach Boucke und Brecht ist distal von der Manschette angeordnet. Das Quecksilbermanometer befindet sich an der Säule des Gerätes. Mit 3 Wärmestrahlern werden Schwänze der Tiere mäßig erwärmt. Auf dem einen Ausleger wird der Blutdruck einer Ratte gemessen, auf dem zweiten ein abgefertigtes Tier gegen ein neues ersetzt, auf dem dritten ein Tier so weit erwärmt, daß eine optimale Eröffnung der Schwanzarterie resultiert. Der Gebrauch von Narkotica ist überflüssig, da die Tiere der Messung keinen Widerstand entgegensetzen. Wir arbeiten mit dem Gerät,

das von Herrn Vreden und mir entworfen und unserem Mechanikermeister gebaut wurde, seit einem Jahr.

Herr Gross hält eine Kontrolle der Trinkleistung bei Tieren mit Cortexon-Hochdruck für erforderlich, weil die Intensität des Hochdrucks von der aufgenommenen Natrium-Menge abhängt.

Ein mangelhafter Anstieg des Blutdrucks bzw. ein vorübergehendes oder dauerndes Absinken des Hochdrucks kann sehr wahrscheinlich auch cardial bedingt sein. Bei vielen Ratten mit Cortexon-Hochdruck findet man im Herzen neben den von Gross schon genannten Gefäßveränderungen auch fleckförmige mehr oder minder ausgedehnte Nekrosen und Schwielen. Offenbar entstehen zu jeder Zeit der Cortexon-Kochsalz-Behandlung Infarkte, die durch endarteriitische Veränderungen im Coronargefäßsystem bedingt sind und vorübergehende oder dauernde Herzinsuffizienz mit niedrigen Blutdruckwerten zur Folge haben. Für diese Annahme spricht, daß Cortexon-Tiere mit groben Zerstörungen der Herzmuskulatur in der Regel keinen wesentlichen oder längerdauernden Hochdruck gehabt haben und Tiere mit auffallend geringen Herzveränderungen nicht selten monatelang einen fixierten Hochdruck zeigten. Zur Insuffizienz kann darüber hinaus wohl auch das erhebliche Herzmuskelödem und die Herzhypertrophie beitragen. Derartige Ereignisse lassen sich am lebenden Tier schwer diagnostizieren, das EKG ist hier ein recht unvollkommenes Hilfsmittel. Man wird sich daher bei der Prüfung drucksenkender Medikamente kaum auf Ergebnisse von Einzeltieren verlassen können sondern, wie es Herr Gross gezeigt hat, mit Kollektiven arbeiten.

E. Roesch (Darmstadt): Eine Auswertung der Wirkung blutdrucksenkender Pharmaka an wachen statt an narkotisierten Tieren kann nach unseren Erfahrungen von wesentlicher Bedeutung sein, denn

1. wird durch Narkose die reflektorische Kreislaufregulation gestört. Dies dokumentiert sich — wie wir aus den Untersuchungen des Thauerschen Arbeitskreises sowie aus eigenen Beobachtungen wissen — dadurch, daß nach Einleitung einer Barbiturat- bzw. Thiobarbituratnarkose beim Hund der pressorische Carotissinusreflex abgeschwächt bis aufgehoben und die blutdrucksteigernde Wirkung von Adrenalin und Nor-Adrenalin sowie die blutdrucksenkende Wirkung von Acetylcholin und Histamin verstärkt wird;

2. haben wir beobachtet, daß z. B. Cevadin und 5-Hydroxytryptamin bei Carotisschlingenhunden in Barbiturat-, Thiobarbiturat- oder Chloralose-Urethan-Narkose blutdrucksenkend wirken, beim selben Tier im Wachzustand dagegen blutdrucksteigernd;

3. ist man beim Arbeiten mit wachen Hunden gezwungen, die Versuchspräparate in einem Dosenbereich einzusetzen, der dem am Menschen anwendbaren entspricht. So rufen z. B. intravenöse Injektionen von mehr als 50 γ Dihydroergotamin pro Kilogramm beim wachen Hund bereits Erbrechen hervor und nach 1 mg Reserpin pro Kilogramm i.v. findet man einen Teil seiner Versuchshunde 2—3 Tage später tot im Stall vor. Pharmakologische Befunde, die mit diesen oder höheren intravenös injizierten Dosen gewonnen wurden, haben also nur ein toxikologisches Interesse.

Die Registrierung des arteriellen Blutdrucks an der Carotisschlinge wacher Hunde nach dem Verfahren von Schroeder ist relativ einfach durchzuführen und bietet zudem den Vorteil, die Wirkung verschiedener Präparate beim selben Tier an verschiedenen Tagen vergleichen zu können.

F. Lembeck (Graz): Beobachtungen an Karzinoid-Patienten, die jahrelanger Einwirkung von Serotonin ausgesetzt sind, ergaben, abgesehen von Blutdruckveränderungen während der Anfälle, Blutdruckwerte im Bereich der Norm (130/85 mm Hg; 20 Beobachtungen bei einem durchschnittlichen Lebensalter von 55 Jahren). Ein Zusammenhang zwischen Serotonin und Hypertonie scheint demnach

wenig wahrscheinlich zu sein. Auch die blutdrucksenkende Wirkung von Serotonin-Antagonisten ist nicht als spezifisch zu erachten.

Schlußwort R. Meier (Basel): Die wichtigste Frage für die Beurteilung der pathologischen Physiologie und der Therapie der Hypertension, dies sei abschließend nochmals betont, bleibt: ist die Blutdruckerhöhung und ihre Folgen unabhängig von der Ursache der entscheidende Faktor oder spielt die unterschiedliche Qualität der gesamten pathologischen Vorgänge in Abhängigkeit von verschiedenen ätiologischen Faktoren eine wesentliche Rolle. Auf Grund der experimentellen Daten ist man geneigt, die zweite Möglichkeit als entscheidend anzusehen. Für die klinische Sachlage scheint die Blutdrucksenkung als solche einen wichtigen Faktor darzustellen.

Doch bleibt festzuhalten, daß die wirksamen blutdrucksenkenden Pharmaka nicht gleich gute und gleich starke Effekte hervorbringen und daß sie nicht für alle Fälle gleich gut geeignet sind bzw. versagen. Es kann deshalb nicht behauptet werden, daß nur die Stärke und Dauer der Blutdrucksenkung der „therapeutische" Faktor sind. Die experimentelle Forschung wird dementsprechend in den durch multiple ätiologische Faktoren bestimmten Komplexen der experimentell hypertonischen Zustände den oder diejenigen auffinden müssen, die nicht nur mitwirkend, sondern essentiell verantwortlich sind. Erst eine solche Auflösung wird ermöglichen, außer dem symptomatischen Charakter der „therapeutischen" Wirkungen auch die ätiologischen Grundlagen derselben zu beurteilen und für die weitere experimentelle und klinische Bearbeitung zu verwerten.

Schlußwort F. Gross (Basel) zu Friebel: Die Anwendung der Infratonmethode am nicht narkotisierten Tier stellt zweifellos eine interessante Möglichkeit der Blutdruckmessung bei Routineuntersuchungen dar, besonders im Hinblick auf die Ausschaltung des Unsicherheitsfaktors der verschiedenen Narkosetiefe. Es wäre interessant, vergleichende Messungen mit der plethysmographischen und der Infratonmethode am wachen und am leicht narkotisierten Tier vorzunehmen.

Schwankungen des Blutdruckes sind beim Cortexonhochdruck weniger ausgeprägt als bei den renalen Formen, treten aber besonders bei Verschlechterung des Allgemeinzustandes infolge zu starker Überdosierung auf. Daß ihnen Schädigungen des Herzmuskels infolge von arteriitischen Veränderungen der Coronarien zugrunde liegen, ist durchaus möglich, jedoch dürften auch Läsionen in anderen Organen (Niere) und Permeabilitätsstörungen der Capillaren, mit nachfolgenden Ergüssen und Verminderung der zirkulierenden Blutmenge, in Betracht zu ziehen sein.

Zu Rösch: Die von Schröder angegebene Blutdruckmessung an der van Leersum-Schlinge am Hund hat ihre Bedeutung vor allem für akute Druckänderungen und die Möglichkeit, die Beeinflussung reflektorischer Druckänderungen am nicht narkotisierten Tier zu untersuchen, stellt zweifellos für derartige Reaktionen einen wesentlichen Vorteil dar.

Für die orientierende Prüfung auf blutdrucksenkende Wirkung neuer Substanzen kann die Methode ebenfalls verwendet werden, jedoch dürfte sie für Routineuntersuchungen an größeren Tierkollektiven aus praktischen Gründen nur ausnahmsweise in Betracht kommen. Vorteile gegenüber der blutigen Messung in der art. femoralis, wie sie an trainierten Tieren ohne weiteres möglich ist, dürften dabei allerdings kaum bestehen.

Schlußwort F. Grosse-Brockhoff (Bonn): Ich glaube, daß ich mich in der Frage der möglichen Zusammenhänge zwischen Serotonin-, Hypertonie und Reserpin-Wirkung schon sehr zurückhaltend ausgedrückt habe. Aber ich darf am Schluß nochmal betonen, daß die Untersuchungen von Wooley mir mehr geeignet erschienen, ein entsprechendes Schlußwort zu finden, als daß sie für die Pathogenese der Hypertonie von konkreter Bedeutung wären.

C. Einzelvorträge

D. Henschler (Würzburg): Toxikologische Untersuchungen an Trikresylphosphaten

Trikresylphosphat findet heute noch in großem Umfang technische Verwendung, obwohl es bekanntlich zahlreiche Vergiftungswellen verursacht hat. Deren Ursache sieht man bisher in dem Gehalt an *Triorthokresyl*phosphat und bemüht sich, die Toxicität durch Verminderung des Anteils an *Orthokresol* herabzudrücken. Wir haben die Toxicität moderner Präparate mit geringen Orthokresolgehalten im Vergleich mit älteren Mustern von Trikresylphosphat geprüft, indem wir Hühnern, zum Teil auch Katzen, die Präparate einmalig per os bzw. intramuskulär verabfolgten. Zur Beurteilung diente die Schwellendosis, die gerade noch Schwäche oder Lähmung der hinteren Extremitäten auslöste.

Überraschend sind *ältere Muster von Trikresylphosphat*, die nur *23—27% Orthokresol* im Aromatenanteil enthalten, etwa *10fach stärker wirksam als reines Triorthokresylphosphat.* Solche Präparate sind, soweit überschaubar, für die bekannten Vergiftungen des Menschen verantwortlich gewesen. Technische Ester mit rund 3% Orthokresol wirken dagegen etwa 30mal schwächer als diese hochtoxischen Produkte.

In technischen Trikresylphosphaten liegen nicht nur, wie im Schrifttum fast durchwegs angenommen wird, die 3 Isomeren Triortho-, Trimeta- und Triparakresylphosphat vor; daneben existieren noch folgende isomeren *Mischester*:

o-o-m-TKP	o-m-m-TKP	m-m-p-TKP
o-o-p-TKP	o-p-p-TKP	m-p-p-TKP
	o-m-p-TKP	

(o = Ortho-, m = Meta-, p = Parakresyl-)

Gross u. Grosse, die erstmals Trikresylphosphate toxikologisch prüften, untersuchten aus methodischen Gründen nur die 3 einheitlichen Triester. Da allein die Triorthoverbindung wirksam war, unterstellten sie, die Toxicität eines Mischtrikresylphosphates entspreche seinem Gehalt an Orthokresol. Diesem Schluß folgten anscheinend alle späteren Autoren. Unsere Untersuchungen zeigen aber, daß die Toxicität der Trikresylphosphate ihrem Orthokresolgehalt *nicht* parallel geht. Zur Klärung der Zusammenhänge haben wir die 7 Mischester, die freundlicherweise von der Farbwerke Hoechst AG für uns hergestellt wurden, in der gleichen Versuchsanordnung an Hühnern geprüft.

Die *Mischester o-m-m, o-p-p und o-m-p* sind entgegen aller Erwartung die *stärkst wirksamen Verbindungen*. Ihre Toxicität entspricht etwa der von technischen Produkten mit rund 30% Orthokresolgehalt. Die beiden Diorthoester (o-o-m und o-o-p) sind im Vergleich dazu etwa halb so wirksam, die Triorthoverbindung (o-o-o) ist 10fach schwächer. Von Orthokresol freie Mischester sind selbst in hohen Dosen unwirksam. Hecht-Elberfeld hat uns kürzlich bestätigt, daß auch nach seinen inzwischen ergänzten Beobachtungen bei Hühnern die 3 Monoortho-Verbindungen am stärksten wirken.

Aus diesen Befunden lassen sich die unerwarteten Wirkungsdifferenzen der geprüften *technischen* Präparate erklären, wenn man die statistische Verteilung der Esterkombinationen mit einem, zwei und drei Orthokresylresten ermittelt. Danach überwiegen bei niederen Orthokresolgehalten Monoorthoverbindungen, in mittleren und höheren Bereichen Diorthoverbindungen, in höchsten (über 75% o-Kresol) schließlich der Triorthoester. Der zu erwartende Anteil an Diorthoestern ist am höchsten bei $66^2/_3$%, der an Monoorthoestern bei $33^1/_3$%; das ist *der* Bereich, in den die Orthogehalte der hochtoxischen technischen Produkte fallen. Da die Einzelkomponenten einer Estermischung additiv wirken, ergibt sich rein rechnerisch die Beziehung zwischen Gesamttoxicität und Orthokresolgehalt aus der Superposition der 3 Wahrscheinlichkeitsfunktionen. Hierbei ist nach den aufgezeigten Beziehungen bei Mischestern die Toxicität der Monoorthoester = 100%, der Diorthoester = 50% und des Triorthoesters = 10% gesetzt. Durch Ableitung der Gesamttoxicität nach dem Orthokresolanteil errechnet sich das Maximum an Toxicität für einen Orthokresolgehalt von 43,4% im Mischpräparat. Die maximale Toxicität wäre dabei etwa 6fach stärker als die des Triorthoesters. Die Tatsache, daß technische Präparate mit rund 30% Orthokresol aber *10*fach stärker wirken als die Triorthoverbindung, erklärt sich wahrscheinlich in erster Linie damit, daß bei der Veresterung von Kresol mit Phosphoroxychlorid das Orthoisomere infolge sterischer Hinderung relativ schwer gebunden wird. Damit wird die Bildung von Tri- und Diorthoestern zurückgedrängt zugunsten der Monoorthoverbindungen. Praktisch resultiert jedenfalls eine Steigerung der Toxicität in mittleren und niederen Orthokresolbereichen und gleichzeitig eine Verschiebung des Toxicitätsgipfels gegen niedrigere o-Kresolgehalte. Bei graphischer Darstellung der Beziehung zwischen Toxicität und o-Kresolgehalt ergibt sich eine Kurve, die mit zunehmendem o-Kresolgehalt zunächst steil ansteigt und bei etwa 30% ein Maximum erreicht, um dann wieder abzufallen und bei 100% (Triorthokresylphosphat) mit $^1/_{10}$ der Maximaltoxicität zu enden. Bei niedrigen Orthokresolgehalten (unter 5%) unterschreitet die tatsächliche, im Tierversuch ermittelte Toxicität die hypothetischen Werte. Für Trikresylphosphate

mit 3% Orthokresol errechnen sich nach der Theorie 7,5% der Toxicität jener hochgiftigen Ester mit 30% Orthokresol; wir fanden bei entsprechenden Präparaten nur rund die Hälfte der erwarteten Wirkungsstärke. Die gefundene Toxicitätsminderung beruht wahrscheinlich darauf, daß bei der gewählten Versuchsanordnung die relativ großen Mengen der nur noch wenig giftigen Stoffe nicht mehr vollständig resorbiert werden, und daß Entgiftungsmechanismen in diesem Bereich stärker zur Wirkung kommen.

Für die Beurteilung der Verwendbarkeit moderner Präparate mit geringen Orthokresolwerten ist zu erörtern, wieweit vom Tierversuch auf den Menschen geschlossen werden darf. Nach Staehelin sollen als Minimaldosis 0,15 g Triorthokresylphosphat beim Erwachsenen Lähmung erzeugt haben. Tatsächlich handelt es sich aber um etwa 0,5 g eines Trikresylphosphates mit 30—40% Orthokresol. Von einem solchen Präparat genügen nach unseren Befunden bei Hühnern und Katzen 10 mg/kg zur Auslösung präparalytischer Symptome. Die Schwellenwerte für Mensch und Tier stehen also in guter Übereinstimmung.

Zusammenfassend können folgende Schlüsse gezogen werden: Die Toxicität von Trikresylphosphaten geht weder dem Gehalt an Triorthokresylphosphat noch allgemein dem Gehalt an Orthokresyl parallel. Sie wird hauptsächlich durch die vorhandenen Monoorthokresylester bestimmt, in zweiter Linie durch den Anteil an Diorthoestern; Triorthokresylphosphat ist dagegen vergleichsweise wenig giftig. Ältere technische Trikresylphosphate mit rund 30% Orthokresol im Aromatenanteil sind daher hochtoxisch, während die derzeit handelsüblichen Ester mit etwa 3% Orthokresol etwa 30mal schwächer wirksam sind.

Literatur

Gross, E., u. A. Grosse: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **168**, 473 (1932). — Staehelin, R.: Schweiz. med. Wschr. **71**, 1 (1941).

Diskussion. H. Oettel (Ludwigshafen): Es würde mich interessieren, ob auch von Herrn Henschler Altersunterschiede in der Empfindlichkeit der Tiere gegen Orthokresylphosphat beobachtet wurden. Meines Wissens wurden sie in der Literatur noch nicht beschrieben. Sie machen es jedenfalls notwendig, daß die Prüfung nur an erwachsenen Hühnern erfolgt. Auch beim Menschen soll eine geringere Empfindlichkeit von Säuglingen gegen Triorthokresylphosphat beobachtet worden sein[1], was aber naturgemäß nicht sicher zu beurteilen ist.

F. Gross (Bonn): Reines o-Trikresylphosphat wird außerordentlich leicht resorbiert und wirkt, wie bekannt, sehr giftig. Die reinen m- und p-Verbindungen sind ganz ungiftig, vielleicht nur deswegen, weil sie nicht resorbiert werden.

Es wäre denkbar, daß die Mischester, die neben o- auch m- und p-Verbindungen in demselben Molekül enthalten, bis zu einem gewissen Grad löslich sind und dann

[1] Susser, M., and Z. Stein: An outbreak of Tri-ortho-cresylphosphate (T.O.C.P.) poisoning in Durban. Brit. J. Ind. Med. **14**, 111 (1957).

toxisch wirken. Es würde dies erklären, daß die Toxicität der Mischester nicht dem Gehalt an o-Kresyl entspricht, sondern größer ist.

G. Kärber (Berlin-Dahlem): Welche Schlußfolgerungen sollen aus den Ergebnissen hinsichtlich einer Änderung der Vorschriften über den Verkehr mit Trikresylphosphat gezogen werden? Eine Entscheidung in dieser Frage dürfte wohl auf Grund der bisher allein vorgenommenen akuten Versuche nicht möglich sein.

Klotzsche (Berlin-Dahlem): Küken von Hühnern, die seit 1950 in der 4. Generation Vitamin D_{12}-frei ernährt wurden, sind außerordentlich empfindlich gegen o-TKP. Bei 2 mg/kg treten akute Vergiftungserscheinungen mit Krämpfen auf. Fütterung kann Toxicität ändern.

G. Hecht (Wuppertal-Elberfeld): In meinem Laboratorium sind auch Versuche mit den 10 isomeren Trikresylphosphaten durchgeführt worden; bei Hühnern werden die Beobachtungen von Henschler bestätigt. Bei Kaninchen, bei denen das Vergiftungsbild etwas anders ist, sind die Monoorthoester wesentlich weniger toxisch als die Diorthoester, die ihrerseits toxischer sind als der Triorthoester.

Schlußwort D. Henschler zu Oettel: Nach Versuchen von Barnes u. Denz[1] sind Küken und junge Hühner unempfindlich gegen lähmende Phosphorsäureester (DFP und Mipafox), auch Fenton[2] fand dies für DFP bestätigt. Für Trikresylphosphat fanden auch wir verringerte Empfindlichkeit. Um ein einheitliches Tiermaterial zur Verfügung zu haben, benutzten wir stets einheitliche Brutansätze reinrassiger Hühner von mindestens 12 Wochen; in jedem Versuchsansatz wurde ein Standardpräparat mitgeprüft, da verschiedene Brutansätze noch beträchtliche Empfindlichkeitsunterschiede aufwiesen. Neben der Futterart ist die Jahreszeit beteiligt.

Zu Hecht: Kaninchen sind, wie bereits Smith u. Mitarb.[3] herausgestellt haben, für das Studium der Lähmungswirkung von Triarylphosphaten allgemein ungeeignet, da die Vergiftung bei dieser Tierart offenbar über ganz andere Mechanismen abläuft. Am ehesten ist das Erscheinungsbild bei Katzen der bei der Vergiftung des Menschen beobachteten Symptomatologie vergleichbar. Triphenylphosphat wirkt, wie ebenfalls Smith u. Mitarb. anläßlich ausgedehnter Versuche zur Klärung der Ätiologie der „gingerparalysis" zeigen konnten, nur an Katzen lähmend. Die Schwellendosen liegen ähnlich wie bei Triorthokresylphosphat, die Vergiftungsbilder unterscheiden sich aber. Triphenylphosphat ruft rein spastische Erscheinungen hervor. Die Wirkung auf den Menschen läßt sich noch nicht beurteilen.

Zu Gross: Die hohe Toxicität der Mono- und Diorthoester ist nicht durch unterschiedliche Resorbierbarkeit bedingt. Untersuchungen zur Erklärung der aufgezeigten Struktur-Wirkungsbeziehungen sind im Gange.

Zu Kärber: Die Frage nach Gefährdung des Menschen durch moderne Trikresylphosphate mit geringen Orthokresolgehalten sollte nicht Gegenstand des vorgelegten Referates sein. Wir werden an anderer Stelle über Versuche mit chronischer und subchronischer Verabfolgung solcher Präparate berichten, die Herstellern und dem Gesetzgeber entsprechende Unterlagen vermitteln sollen.

---

[1] Barnes, J. M., u. F. A. Denz: J. Path. and Bact. **65**, 597 (1953).
[2] Penton, J. B. C.: J. Path. and Bact. **69**, 181 (1955).
[3] Smith, M. I. u. Mitarb.: Publ. Health, Rep. **47**, 1 (1932).

G. TAUBERGER (Bonn): Zur Pharmakologie eines neuen insecticiden chlorierten Kohlenwasserstoffes: 1,3,4,5,6,7,10,10-Octachlor-4,7-Methylen-4,7,8,9-Tetrahydrophthalan (Omtan)

Das Omtan ist ein neuer Vertreter in der Reihe der insecticiden chlorierten Kohlenwasserstoffe. Es handelt sich um ein hochwirksames Insecticid, das auch für den Warmblüter eine hohe Toxicität aufweist. Die DL 50 für die Ratte liegt bei 1,8 mg/kg i.v. bei Verwendung von Monomethylglykoläther als Lösungsmittel.

Das Erscheinungsbild der Omtan-Vergiftung entspricht grundsätzlich dem Bilde, welches uns von den bekannten insecticiden chlorierten Kohlenwasserstoffen her geläufig ist. Es besteht in Dyspnoe, Speicheln, Koordinationsstörungen und tonisch-klonischen Krämpfen, um nur einige Symptome zu nennen. Die Krämpfe schwächen sich im weiteren Verlauf ab, hören schließlich ganz auf und die Tiere sterben in einem komaähnlichen Zustand.

Auch am narkotisierten Tier zeichnen sich nach i.v. Omtaninjektion im wesentlichen 2 Abschnitte der Vergiftung ab. In der ersten Phase, dem Erregungsstadium, wird die Narkose bei entsprechender Dosierung durchbrochen. Außer Dyspnoe und Krämpfen registrierten wir hier eine erhebliche Blutdrucksteigerung, Hyperglykämie und Temperaturerhöhung. Dann erfolgt allmählich der Übergang in die zweite Vergiftungsphase mit niedrigem Blutdruck und niedrigem Blutzucker. Die Tiere sterben schließlich durch Kreislaufversagen und Atemstillstand.

Weitere pharmakologische Versuche ergaben hinsichtlich der Vorgänge in der Erregungsphase folgendes:

1. Krämpfe nach Omtaninjektion treten auch am dezerebrierten und am dekapitierten Tier auf.

2. Blutdrucksteigerung, Hyperglykämie und Anstieg der Körpertemperatur werden auch am curarisierten Tier beobachtet. Sie sind also nicht an das Manifestwerden der Krämpfe gebunden.

3. Die Blutdrucksteigerung ist nach Entfernung der Nebennieren deutlich vermindert. Sie läßt sich durch Novocaininfiltration des Rückenmarks in Höhe der Membrana altantooccipitalis oder durch Yohimbin i.v. vollständig aufheben.

4. Luminal hebt prophylaktisch und therapeutisch die Dyspnoe, die Krämpfe und den Blutdruckanstieg auf.

In der zweiten Phase der Vergiftung fanden wir bei Kaninchen, die starke Krämpfe gezeigt hatten, einen Abfall des Blutzuckers, der manchmal unter 60 mg-% lag. Außerdem stellten wir konstant eine deutliche Abnahme der Alkalireserve fest, und zwar auch bei solchen Tieren, die eine nicht tödliche Krampfdosis erhalten hatten. Der Kaliumspiegel im

Serum steigt schon 20 min nach Beginn der Krämpfe auf 45—50 mg-% an, bei einem gleichzeitigen Anstieg des Calcium bis auf 20 mg-%. Bei überlebenden Tieren bildet sich die Hyperkaliämie verhältnismäßig rasch zurück, während die Alkalireserve nach 24 Std noch deutlich vermindert ist.

Das Auftreten des zweiten Vergiftungsstadiums, gekennzeichnet durch Hypoglykämie, Kaliumanstieg, Acidose und Kreislaufversagen, kann verhindert werden, wenn frühzeitig, möglichst noch zu Beginn der Erregungsphase, Luminal verabfolgt wird. Durch Vorbehandlung mit Luminal-Natrium gelingt es, die sicher tödliche Dosis von 2,5 mg/kg Omtan i. v. bei der Ratte zu entgiften.

Diskussion. F. Bär (Berlin-Dahlem): Dieser verhältnismäßig toxische Vertreter einer in ihrer Wirkungsweise wenig bekannten Gruppe der Insecticide liefert weniger den Anreiz für eine praktische Anwendung als für die Durchführung geeigneter Untersuchungen über die Wirkungsweise (Einwirkung auf gewisse Enzyme).

H. Th. Hofmann (Ludwigshafen/Rh.): Neuere Erfahrungen mit hochtoxischen Chlorkohlenwasserstoffen

Vor einigen Jahren ereignete sich bei der Herstellung von 2,4,5-Trichlorphenol aus 1,2,4,5-Tetrachlorbenzol und alkalischer Methanollösung eine folgenschwere exotherme Zersetzung. Gegen Ende der Destillation des überschüssigen Methanols trat ein plötzlicher Druck- und Temperaturanstieg im Autoklaven ein, aus dessen Sicherheitsventil zischend Dämpfe ausströmten. Etwa 10 Tage nach dem Vorfall waren bei einigen der im Autoklavenraum beschäftigten Arbeiter und Handwerker leichte Hauterkrankungen aufgetreten, doch bestanden gegen die Fortführung der Reparaturarbeiten zunächst keine Bedenken, da sofort in den Autoklavenraum verbrachte Versuchstiere nach 2tägiger Exposition sich völlig normal verhielten.

Wenige Tage später waren aber bei den als erste mit der Autoklavenreparatur beschäftigten Handwerkern und einigen Betriebsarbeitern schwere akute Dermatitiden, besonders des Gesichts, aufgetreten. Obgleich erneut für 2 Tage in den Autoklavenraum verbrachte Versuchstiere sich zunächst normal verhielten, wurden die weiteren Reparaturarbeiten sofort eingestellt. Nach einigen Tagen erkrankte auch die nach den ersten Tierversuchen eingesetzte Handwerkergruppe an der gleichen akuten Gesichtsdermatitis. Aus den zum Teil mit starken Hyperkeratosen einhergehenden akuten Hauterscheinungen entwickelte sich bei allen Betroffenen allmählich die klassische Pernakrankheit.

Von den inzwischen wiederholt in die Autoklavenräume verbrachten Versuchstieren wiesen Ratten überhaupt keine und Meerschweinchen nur

ganz unspezifische Reaktionen auf. Katzen zeigten dagegen nach längerer Latenzzeit diffusen Haarausfall und Hyperkeratosen der Haut, während Kaninchen nach einer Latenz von 1—3 Wochen an einer akuten Lebernekrose starben, wie wir sie früher im Würzburger Institut nach Verabreichung von Hexachlornaphthalin beobachten konnten (Hofmann u. Neumann).

Für die weiteren Versuche, die sowohl der Auffindung des toxischen Zersetzungsproduktes als auch der Säuberung der Betriebsräume dienen sollten, benutzten wir daher nur noch Kaninchen, deren spezifische Lebernekrose mit der Bromsulphthalein-Mikromethode (Hofmann u. Oettel) bereits intra vitam verfolgt werden konnte.

Nach dem Auftreten der ersten schweren Hauterkrankungen wurden auch der verkohlte Autoklavenrückstand und der Bodenschmutz der Fabrikationsräume den Kaninchen auf verschiedenen Zufuhrwegen verabreicht. Nach perkutaner Applikation wurden schwere hyperkeratotische Hautveränderungen und nach peroraler Gabe resorptive Lebernekrosen beobachtet.

Trotz intensiver Reinigung der Autoklavenräume, die unter besonders strengen Vorsichtsmaßnahmen erfolgte, Entfernung aller Armaturisolierungen, Streichen der Wände und Erneuerung des gesamten Fußbodens starben noch 4 Monate nach der Zersetzung sämtliche Kontrollkaninchen nach 3—5tägigem Aufenthalt in den Räumen entweder an akuter Lebernekrose oder sie wiesen schwere Leberfunktionsstörungen auf. Auch wurden während der Reinigungsarbeiten immer noch vereinzelt leichte Pernaerkrankungen beobachtet.

Zahlreiche, aus dem Isoliermaterial der Autoklavenleitungen und aus dem Autoklaven selbst gewonnene Rohextrakte bewirkten bei Kaninchen nach einmaliger peroraler Zufuhr von nur 1 mg/kg innerhalb von 8 Tagen tödliche Lebernekrosen. Aus zahlreichen Zersetzungsversuchen konnten ebenso wirksame Extrakte und aus einigen Trichlorphenolchargen des Handels hochwirksame Fraktionen erhalten werden, die bereits in Dosen von 0,3 mg/kg bei Kaninchen nach einmaliger peroraler Zufuhr zu tödlichen Lebernekrosen oder schweren, mitunter in Cirrhose übergehenden Leberparenchymschädigungen führten. Selbst 0,1 mg/kg bewirkte zum Teil erhebliche Bromsulphthaleinretentionen. Das hochtoxische Zersetzungsprodukt ist in Benzol, Tetrachlorkohlenstoff und Aceton löslich und sublimiert bei etwa 0,1 Torr und 250° C unzersetzt; es muß sich um einen mehrkernigen, chlor- und sauerstoffhaltigen Kohlenwasserstoff handeln.

Aus der Fülle der geprüften definierten Produkte kann nur ein Teil angeführt werden. Trichlorphenol und Tetrachlorbenzol kommen für die Pernaerkrankungen und die Lebernekrosen der Kaninchen ursächlich nicht in Frage, da sie als Reinprodukte selbst in Dosen von

1 g/kg keine Leberschädigung verursachen. Auch Chlornaphthalin- und Chlordiphenyl-Verbindungen sowie Pentachlorphenol, die an der Pernakrankheit und der sogenannten X-Disease ursächlich beteiligt sein sollen, wirken im Kaninchentest bestenfalls in Dosen von 10—50 mg/kg hepatotoxisch. Verschiedene Chlordioxydiphenyl-Verbindungen erwiesen sich selbst in Mengen von 50 mg/kg unwirksam. Dagegen waren verschiedene Chlordiphenylenoxyde hochtoxisch und erfüllten unsere an das Zersetzungsprodukt gestellte Forderung — Wirksamkeit in Dosen von weniger als 1 mg/kg — in vollem Unfang. Besonders toxisch erwiesen sich Tri- bis Pentachlordiphenylenoxyd, die in Mengen von 1 mg/kg mit großer Regelmäßigkeit den Tod aller und in solchen von 0,3 mg/kg eines Teiles der Versuchstiere an akuter Lebernekrose bewirkten. Selbst 0,1 mg/kg verursachte noch Leberfunktionsstörungen. Daß diese Verbindungen auch Hautschädigungen im Sinne der Pernakrankheit auslösen können, hatten wir zunächst von Herrn Dr. Hecht erfahren. Bei der Herstellung der Chlordiphenylenoxyde sind auch bei uns trotz größter Vorsichtsmaßnahmen vereinzelt Erkrankungen aufgetreten.

Es kann daher angenommen werden, daß bei der Trichlorphenolzersetzung, die nicht nur bei uns, sondern in den letzten Jahren auch in anderen Industriebetrieben des In- und Auslandes aufgetreten ist und dort ebenfalls zahlreiche Pernaerkrankungen ausgelöst hat, solche oder ähnliche hochtoxische Verbindungen entstanden sind. Sie gehören zu den wirksamsten der Toxikologie überhaupt bekannten Produkten und sind vielleicht als Verunreinigung des mindestens 100 mal schwächer wirksamen Hexachlornaphthalins die eigentliche Ursache der Pernakrankheit.

Literatur

Hofmann, H. Th., u. W. Neumann: Zbl. Arbeitsmed. **2**, 169 (1952). — Hofmann, H. Th.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **218**, 110 (1953). — Hofmann, H. Th., u. H. Oettel: Ärztl. Wschr. **1954**, 965. — Hecht, G.: Persönliche Mitteilung.

Diskussion. H. Oettel (Ludwigshafen): Die Aufklärung dieser eigenartigen Vergiftung hat uns sehr große Schwierigkeiten gemacht. Die Wirkstoffe waren so toxisch, daß sogar die Tiere in den Nachbarkäfigen an Lebernekrosen erkrankten. In Metallkäfigen, in denen ein vergiftetes Tier gesessen hatte, erkrankten auch die nächsten Tiere wiederum an Lebernekrosen, so daß wir zunächst an eine Virusinfektion gedacht hatten. Die Isolierung des schädigenden Agens und die Kenntnis seiner Bildung schien uns notwendig, um ähnliche Zwischenfälle bei künftigen Synthesen von chlorierten cyclischen Kohlenwasserstoffen zu vermeiden.

W. D. Erdmann und G. Schmidt (Göttingen): Spezifische Antidotbehandlung bei protrahierter Vergiftung mit Alkylphosphaten an Meerschweinchen

Mit intravenösen Dauerinfusionen von Alkylphosphaten lassen sich an betäubten Meerschweinchen protrahierte Vergiftungen erzeugen, in deren Verlauf der therapeutische Effekt einer Gegenbehandlung an der

Besserung von Puls- und Atemfrequenz sowie an der Verschiebung der Letaldosis zu höheren Werten hin abgelesen werden kann. Untersucht wurden einige von Wilson zuerst vorgeschlagene Verbindungen, die die blockierte (= phosphorylierte) Esterase auch in vivo reaktivieren können. Von den geprüften Antidoten NHMJ (nicotinhydroxamsaures Methjodid), PAM (Pyridin-2-aldoxim Methjodid) und Pyridinaldoxim erwies sich PAM am wirksamsten. Die durch Alkylphosphate ausgelöste toxische Bradykardie sowie die typischen EKG-Veränderungen verschwinden nach i.v. PAM-Injektion schlagartig. Die Atemdepression dagegen normalisiert sich nur zögernd und begrenzt. Unter PAM-Behandlung erhöht sich die Letaldosis der Alkylphosphate auf das 4fache, die von Eserin dagegen nicht. Ein außerordentlich hoher Schutz gegen die Vergiftung mit Alkylphosphaten läßt sich erreichen durch eine Kombination von PAM mit Atropin und künstlicher Beatmung. Dabei werden noch 160fache Letaldosen von Paraoxon bzw. 20fache Letaldosen von DFP vertragen. Zur Analyse der Herzwirkungen von Alkylphosphaten wurden Versuche an vagotomierten Meerschweinchen sowie an isolierten Herzpräparaten durchgeführt. Es zeigte sich, daß die Alkylphosphate direkt an den Reizbildungszentren des Herzens angreifen. PAM besitzt neben seinen esterasereaktivierenden Eigenschaften eine atropinartige Wirkung, der hier zweifellos eine pharmakologische Bedeutung zukommt.

Diskussion. dal Ri (Göttingen): An betäubten, atropinisierten Ratten wurde das Aktionspotential vom zentralen Phrenicusstumpf sowie das Elektromyogramm des Diaphragma abgeleitet. Unter künstlicher Atmung und Gaben von 0,2 mg/kg i.v. E 600 kommt es zum Ausfall des Elektromyogramms. Nach Gabe von 30 mg/kg PAM i.v. kehrt die Diaphragmaaktion zurück. Bei stärkerer E 600-Vergiftung, bei der es zum Ausfall von Myogramm sowie Aktionspotential des N. Phrenicus kommt, kann mit PAM keine Antidotwirkung mehr erzielt werden.

H. Kewitz (Berlin-Dahlem): 1. Alle von Erdmann und Schmidt benutzten Reaktivatoren wurden von I. B. Wilson entwickelt. Folglich besteht keine Veranlassung gerade das Nicotin-Hydroxamsäure-methyljodid als „Wilsonkörper" zu bezeichnen. Da Wilson selbst PAM als eine daraus hervorgegangene, erheblich wirksamere Weiterentwicklung betrachtet, wäre es dann schon sinnvoller, diesem Stoff den Eigennamen beizufügen.

2. Kewitz, Wilson und Nachmansohn[1] haben in Abrede gestellt, daß eine atropinartige Wirkung von PAM im Mechanismus der Antidotwirkung eine Rolle spielt. Diese Auffassung wurde mit folgenden Argumenten begründet:

a) PAM vermindert nicht die blutdrucksenkende Acetylcholinwirkung an der eviscerierten Katze.

b) Die durch Mintacol oder DFP hervorgerufene Miosis der Kaninchenpupille wird durch Atropin aufgehoben, aber die Pupille ist gelähmt und reagiert nicht auf Licht. Im Gegensatz dazu resultiert nach PAM-Injektion eine normal große Pupille, die reaktionsfähig ist.

[1] Archiv Biochem. Biophysics **64**, 456 (1956).

c) PAM ist völlig unwirksam gegenüber der tödlichen Eserinvergiftung.

d) Die stark gesteigerte Antidotwirkung von PAM durch die Kombination mit Atropin, die von Kewitz, Wilson und Nachmansohn gezeigt wurde, spricht dagegen, daß eine atropinartige Wirkung von PAM für den Mechanismus der Antidotwirkung am gesamten Tier eine wesentliche Rolle spielt. Das Hervorzuhebende an der Verbindung ist meines Erachtens der völlig andere Wirkungsmechanismus, der in eigenen Arbeiten[1] durch Messung der Cholinesteraseaktivität direkt am vergifteten und mit PAM behandelten Tier demonstriert werden konnte.

3. Aus einer Veröffentlichung von Loomis kann geschlossen werden, daß kristallisiertes PAM erhebliche Beimengungen enthalten kann, denn die LD_{50} des von Wilson und Ginsburg hergestellten PAM betrug an der Maus 135 mg/kg i.p., die der von Loomis verwendeten Präparation über 200 mg/kg. Wäre es vielleicht möglich, daß die hier vorgetragenen atropinartigen Wirkungen durch Beimengungen verursacht wurden?

4. Wegen einiger Besonderheiten der für die Aufrechterhaltung der Funktion notwendigen Cholinesteraseaktivität und der großen Bedeutung des Zeitfaktors, wegen der irreversiblen chemischen Reaktion zwischen Cholinesterase und Alkylphosphat und wegen der möglichen, bei den einzelnen Giften verschieden schnell ablaufenden direkten Reaktion zwischen Alkylphosphat und Reaktivator, halte ich die verwendete protrahierte Vergiftung in diesem Fall zur Erlangung quantitativer Aussagen über die Wirkungsstärke von Reaktivatoren für unzweckmäßig.

Schlußwort W. D. Erdmann: 1. Der Ausdruck „Wilson-Körper" stammt von Funke und Mitarb. und gilt für NHMJ, nicht für PAM.

2. Es ist kein Wunder, wenn ein kompetitiver Stoff für Acetylcholin wie PAM (vgl. curareartige Wirkung, Esterasehemmung u. a.) *auch* atropinartige Wirkungen besitzt. Interessant ist lediglich, daß dieser atropinartigen Wirkung in dem Zeitraum bis zur Fermentreaktivierung eine lebensrettende — symptomatische — Bedeutung zukommt.

Auch bei der *Eserin-Vergiftung* tritt der atropinartige PAM-Effekt deutlich hervor (Beseitigung von Bradykardie und A.V.-Block).

3. Das von uns verwendete PAM ist uns von Herrn Prof. Wirth und Herrn Dr. Schrader freundlicherweise überlassen worden. Nach den LD_{50}-Werten handelt es sich um ein reineres Produkt, als es von Loomis benutzt wurde.

4. Eine direkte Umsetzung zwischen Alkylphosphat und PAM ist in unseren Versuchen natürlich genau so möglich wie bei anderen akuten Versuchen (z. B. bei präventiven PAM-Gaben).

K. D. Friedberg und **F. Sakai (Göttingen): Spezifischer Nachweis von Alkylphosphaten (E 600, E 605, Systox) in Blut und Gewebe bei Vergiftungen mit Hilfe eines fermentreaktivierenden Antidots (Pyridin-Aldoxim-Methjodid, PAM)**

Der eindeutige Nachweis der Alkylphosphate bei Vergiftungsfällen ist in der Praxis immer noch mit erheblichen Schwierigkeiten verbunden; nur die Kombination verschiedener chemischer und biologischer Tests gibt dem Untersucher eine gewisse Sicherheit für die Diagnose.

[1] Kewitz, H.: Arch. of Biochem. a. Biophysics **66**, 263 (1957). — Kewitz, H., and D. Nachmansohn: Arch. Biochem. a. Biophysics **66**, 271 (1957).

Die gebräuchlichen Alkylphosphate sind alle starke Anticholinesterasen; man zieht diese Eigenschaft gelegentlich zur Erkennung einer fraglichen Vergiftung heran, muß aber damit rechnen, daß aus anderen Ursachen Hemmungen der Cholinesterase-Aktivität auftreten können. Man kann außerdem keine Norm über die Höhe der Cholinesterase-Aktivität in verschiedenen Geweben aufstellen, wenn es sich um Material handelt, das verwesenden Leichen entnommen wird.

In einigen Versuchsreihen konnten wir uns andererseits davon überzeugen, daß Cholinesterasen in Plasma und Erythrocyten in vitro und im Hirn von Tierkadavern lange den Tod des Organismus überleben. Es wurde darum der Versuch gemacht, den Alkylphosphatnachweis eindeutiger und einfacher durchzuführen mit Hilfe eines von Wilson u. Nachmansohn entwickelten spezifischen fermentreaktivierenden Antidots, dem Pyridin-Aldoxim-Methjodid (PAM). Bei Messung der Cholinesterase-Aktivität nach der Ammonschen Methode in Serum, Erythrocyten und Hirn wurde gefunden, daß das durch E 600, E 605 und Systox sowohl in vitro als auch in vivo vergiftete Ferment noch Tage und Wochen nach der Vergiftung durch PAM in erheblichem Ausmaß reaktiviert werden kann. Eine derartige Reaktivierung kann somit als eindeutiger Nachweis einer Vergiftung mit Alkylphosphaten benutzt werden.

Mit DFP vergiftetes Ferment wurde nur in geringerem Umfang reaktiviert. Die an unvergifteten Cholinesterasen gemessene Eigenhemmung des PAM war bei dieser Methode auch in der hohen Konzentration (10^{-3}), die angewandt wurde, sehr klein. Versuche an Blut und Hirngewebe von Leichen Vergifteter haben uns die Brauchbarkeit dieses Nachweisverfahrens in der Praxis bestätigt.

Diskussion. H. Kewitz (Berlin-Dahlem): Die Möglichkeit der Enzymreaktivierung nimmt mit zunehmender Vergiftungsdauer erheblich ab (eigene Versuche, Hobbiger). Dieses Verhalten wird als Folge einer intramolekularen Transphosphorylierung gedeutet, die temperaturabhängig ist. Folglich ist die Zeit nach dem Tode des Tieres und Aufbewahrung des Kadavers im Kühlschrank für das Ausmaß der Reaktivierung von geringerem Einfluß als die Überlebenszeit des Tieres nach Applikation des Alkylphosphates. Wir haben festgestellt, daß bei Tieren, die 3 Tage nach der Injektion von Mintacol getötet wurden, keine Reaktivierung der Acetylcholinesterase des Gehirns mehr möglich ist. Nach DFP nimmt die Reaktivierbarkeit noch viel schneller ab. Bei der OMPA-Vergiftung ist gar keine Wirkung von PAM in vitro festzustellen. Die dargestellten Untersuchungen sind also nur für den Nachweis der Vergiftungen durch einige Alkylphosphate verwertbar und auch dann nur bei positivem Ausfall.

Schlußwort K. D. Friedberg: Das Problem der Transphosphorylierung wurde bei unserer Untersuchung beachtet und im Vortrag diskutiert. Die vorgeschlagene Möglichkeit eines spezifischen Alkylphosphatnachweises in der Leiche bezieht sich in erster Linie auf beabsichtigte Vergiftungsfälle, die praktisch alle akut tödlich verlaufen. Wir haben auch bei protrahierten Vergiftungen mit E 605 an Meerschweinchen mit der immer angewandten hohen PAM-Konzentration (10^{-3}) und der 1 stündigen Einwirkungszeit dieses Stoffes auf die Cholinesterase Reaktivierungen

dieser Fermente erhalten. Weiterhin möchte ich ergänzen, daß eine PAM-Behandlung von Alkylphosphatvergiftungen, die dann doch tödlich verlaufen, den Alkylphosphornachweis nicht ausschließt. Wir haben in entsprechenden Versuchen an Katzen an der Hirncholinesterase deutliche Reaktivierungen gesehen. Es ist auch bekannt, daß das PAM in vivo diese Cholinesterasen nur schlecht erreicht.

D. Maibauer (Berlin): Über die Leberverfettung nach Äthionin

Das Problem des Stoffwechselantagonismus ist in letzter Zeit in den Vordergrund des Interesses gerückt. Im Äthionin, welches sich nur durch die Äthyl-Substitution am Schwefelatom vom Methionin unterscheidet, liegt nach dem bisher Bekannten ein Antagonist des Methionins vor. Sowohl die akute als auch die chronische Äthioninvergiftung ist durch eine Reihe morphologischer Veränderungen charakterisiert, unter denen eine hochgradige Leberverfettung und eine Degeneration der exkretorischen Pankreasepithelien besonders imponieren. Es sind andererseits bisher nur wenige Fermente bzw. Fermentsysteme bekannt, deren Funktion bei der Äthioninvergiftung Schaden leidet. Beispiele sind die Cholin- bzw. Sarkosinoxydase. Alle durch Äthionin hervorgerufenen Veränderungen sind durch Methionin zu verhindern bzw. rückgängig zu machen.

Im Anschluß an morphologische Untersuchungen von Doerr u. Mitarb. haben wir uns mit der Leberverfettung bei der Äthioninvergiftung der Ratte beschäftigt. Bekanntlich wird das Zustandekommen einer Leberverfettung zum Teil auf einen Energiemangel der Leberzelle zurückgeführt. Wir haben daher geprüft, ob sich eine Schädigung der energieliefernden Mechanismen der Leberzelle nachweisen läßt und haben als erstes die oxydative Phosphorylierung des Succinoxydase-Systems untersucht. Zu diesem Zwecke wurden Lebermitochondrien normaler und äthioninvergifteter Tiere nach der Methode von Schneider isoliert und die Atmung und Phosphataufnahme bestimmt. Es ergab sich kein Hinweis auf eine Schädigung dieses Systems. Damit ist jedoch nicht ausgeschlossen, daß nicht an anderer Stelle der energieliefernden Stoffwechselreaktionen ein Eingriff erfolgen kann. Versuche an anderen Substraten (Fumarat) zeigen, daß hier eine Entkoppelung der oxydativen Phosphorylierung möglich ist.

Es ist bei der Äthioninvergiftung sehr auffällig, daß bei der Ratte ein deutlicher Geschlechtsunterschied bezüglich der Toxicität und des Ausmaßes der Leberverfettung besteht: die weiblichen Tiere sind wesentlich empfindlicher und weisen bei der akuten Vergiftung eine stärkere Leberverfettung auf. Die Abhängigkeit von endokrinen Faktoren ließ nach anderen Fermentsystemen suchen, die ebenfalls eine bei beiden Geschlechtern verschiedene Aktivität besitzen. Dies ist bei dem von Brodie u. Mitarb. beschriebenen Fermentsystem der Fall, welches in den

Lebermikrosomen lokalisiert ist und eine Vielzahl von Pharmaka abzubauen vermag. Es ist bei der männlichen Ratte wesentlich aktiver als beim weiblichen Tier. Wir haben uns daher gefragt, ob die höhere Aktivität dieses Fermentsystems beim Männchen — wenigstens teilweise — vor der akuten Äthioninwirkung schützt. Eine Hemmung des Systems durch einen Inhibitor (Phenyldiallylessigsäureester des Diäthylaminoäthanols) müßte dann sowohl die Toxicität des Äthionins erhöhen als auch den Fettgehalt der Leber ansteigen lassen. Beides ist nicht der Fall. Eine Entgiftung des Äthionins durch das untersuchte Enzymsystem in den Mikrosomen ließ sich also nicht nachweisen.

Andererseits ist bei der Äthioninvergiftung eine Wirkung auf das Mikrosomen-System zu beobachten. Als Test für dessen Funktion wurde die Schlafdauer nach Evipan herangezogen. Prüft man die Schlafdauer akut äthioninvergifteter Tiere nach Evipan, so zeigen die Männchen keinerlei Unterschied gegenüber den Kontrollen, während die Weibchen, die zu diesem Zeitpunkt bereits eine starke Leberverfettung aufweisen, mit einem Anstieg der Schlafdauer reagierten. Daß es sich hierbei tatsächlich um eine Wirkung auf das Mikrosomen-System von Brodie handelt, geht aus den Versuchen hervor, über die Herr Neubert berichten wird.

D. Neubert (Berlin): Enzymatische Leistungen der Lebermikrosomen bei der Äthioninvergiftung

Mit 2 Textabbildungen

Vor einigen Jahren wurden von Cook, Toner u. Fellows in Amerika sowie von Herken u. Mitarb. Phenylessigsäure-Derivate beschrieben, die in der Lage sind, die Wirkungen einer ganzen Reihe von Pharmaka im Tierexperiment erheblich zu verstärken. Der Effekt kommt dadurch zustande, daß die Verbindungen in die Abbauvorgänge, die an den körperfremden Stoffen stattfinden, eingreifen. Brodie u. Mitarb. konnten später zeigen, daß sich die Fermente, die für den Abbau vieler Pharmaka verantwortlich sind, in den Mikrosomen der Leberzellen befinden.

Die bei den Phenylessigsäure-Derivaten gewonnenen Erfahrungen haben wir bei der Äthioninvergiftung verwandt. Das Äthionin führt zu stärksten morphologischen Veränderungen, deren Anfänge, wie z. B. Doerr nachweisen konnte, bereits 12 Std nach Vergiftungsbeginn zu erkennen sind. Über die Wirkung auf Fermentsysteme ist jedoch sehr wenig bekannt.

Zusammen mit Maibauer und Schaefer habe ich männliche Ratten 5—8 Tage mit täglich 250—350 mg/kg Äthionin vergiftet, aus den Leberhomogenaten durch Zentrifugation die Mikrosomen- und Plasmafraktion isoliert und den Abbau bestimmter Pharmaka durch diese Fermentpräparationen unter Zugabe des für die

Reaktion notwendigen TPN bestimmt. Als Test für die Aktivität der „Mikrosomenfermente" benutzten wir zwei typische Reaktionen: 1. die Seitenkettenoxydation des Evipans und 2. die N-Demethylierung des Pyramidons. Das Verschwinden des Evipans aus dem Reaktionsgemisch wurde spektrophotometrisch, die Entstehung des 4-Amino-Antipyrins durch Messung der Diazotierungsrate bestimmt.

Äthionin hatte in einer Konzentration von 10^{-2} m in vitro keine Wirkung auf die Aktivität der Mikrosomenfermente. Wurden jedoch die Enzympräparationen der vorbehandelten Tiere getestet, so war eine erhebliche Verzögerung des Evipan- und des Pyramidonabbaues zu erkennen (Abb. 1).

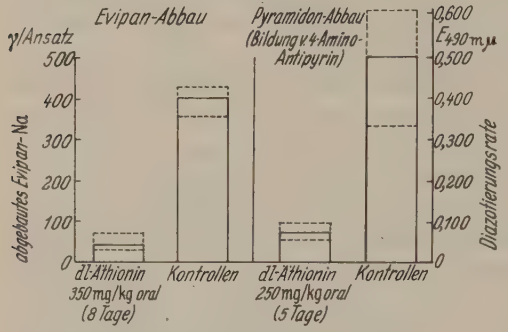


Abb. 1. Fermentative Leistungen der Lebermikrosomen (♂ Ratten) bei der Äthionin-Vergiftung

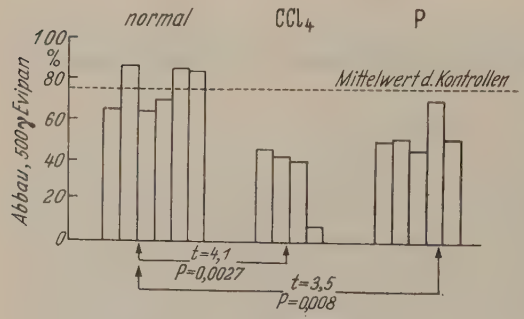


Abb. 2. Aktivität der Mikrosomenfermente (Rattenleber) nach Einwirkung verschiedener Lebergifte

Wir können noch nicht sagen, welches Enzymsystem betroffen wird. Es spricht viel für ein Flavoprotein, möglicherweise handelt es sich um ein Xanthinoxydase-ähnliches Ferment. Auch bei diesem Enzym führt eine proteinarme Diät bei Ratten zu einer ausgeprägten Aktivitätsverminderung.

Die Wirkung des Äthionins auf die „Mikrosomenfermente" kann nicht als ein spezifischer Effekt angesehen werden, da auch bei andersartiger Schädigung der Leberzellen ähnliche Beobachtungen gemacht wurden. Wir haben Ratten mit Tetrachlorkohlenstoff und Phosphor vergiftet und trotz sehr kurzer Einwirkungszeit der beiden Stoffe eine deutliche Hemmung der Aktivität der Mikrosomenfermente gefunden (Abb. 2). Die Ergebnisse lassen den Schluß zu, daß dieses Fermentsystem bereits zu hemmen ist, wenn andere Fermente der Zelle, wie z. B. die Succinodehydrase noch ungeschädigt erscheinen.

Wir nehmen also an, daß die von uns untersuchten Fermente nicht nur in spezifischer Weise, wie es offenbar durch die Phenylessigsäurederivate geschieht, blockiert werden, sondern, daß auch eine unspezifische

Leberschädigung zu einer Aktivitätsverminderung führen kann. Die von Klinikern immer wieder gemachte Beobachtung, daß Patienten mit einer Leberschädigung eine deutliche Wirkungsverlängerung gegenüber gewissen Medikamenten zeigen, könnte auch beim Menschen auf einer Inaktivierung des von uns untersuchten Fermentsystems beruhen.

Literatur

Axelrod, J., J. Reichenthal and B. B. Brodie: J. Pharmacol. a. Exper. Ther. **112**, 49 (1954). — Cook, L., J. Toner and E. J. Fellows: J. Pharmacol. a. Exper. Ther. **111**, 131 (1954). — Cooper, J. R., and B. B. Brodie: J. Pharmacol. a. Exper. Ther. **114**, 409 (1955). — Doerr, W.: Verh. dtsch. Ges. Path. 292 (1953). — Herken, H., W. Hoffmann u. D. Maibauer: Naturwissenschaften **43**, 202 (1956).— Neubert, D., u. H. Herken: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **225**, 453 (1955).

E. Schütz (Ludwigshafen): Der Einfluß von Polyäthylenglykol 400 auf die percutane Resorption von Wirkstoffen

Mit 1 Textabbildung

Die exakte Prüfung der percutanen Resorption von Flüssigkeiten an der unverletzten Haut stößt im Tierversuch auf größte Schwierigkeiten.

Von einer fehlerfreien Methode ist zu fordern, daß

a) die durch Scheren oder Depilation gesetzten Hautläsionen bei Versuchsbeginn abgeheilt sind,

b) das Tier nicht die Möglichkeit hat, Substanzspuren peroral oder per inhalationem aufzunehmen und

c) keine Substanzspuren während der Exposition in die Ausscheidungsprodukte gelangen, wenn diese zum Nachweis der erfolgten Wirkstoffresorption analytisch untersucht werden sollen.

Das langsame Haarwachstum der Ratten bietet — im Gegensatz zum starken der Kaninchen — die Möglichkeit, die Tiere mindestens 3—4 Tage vor Versuchsbeginn zu scheren, eine Zeitspanne, die nach unseren Erfahrungen mit Sicherheit ausreicht, eventuelle Verletzungen der Haut zur Abheilung zu bringen.

In einer Spezialhalterung mit einem Glaseinsatz, dessen Ränder am Kopf- und Schwanzende leicht einwärts gebogen sind, wodurch ein Ausfließen der zu untersuchenden Lösungen und damit sowohl die perorale Aufnahme als auch die Verunreinigung der Ausscheidungsprodukte verhindert wird, fixieren wir die Ratten in unseren Versuchen routinemäßig 4 Std, ein Eingriff, der in zahlreichen Kontrollversuchen schädigungslos vertragen wurde. Eine Wirkstoffresorption zeigt sich gegebenenfalls durch charakteristische Vergiftungssymptome (Krämpfe, Zuckungen usw.), den Blutbefund oder durch den Substanznachweis im Urin.

Der Einfluß von Polyäthylenglykol auf die percutane Resorption von inkorporierten bzw. gelösten Wirkstoffen wird in der Literatur nicht einheitlich beurteilt. Wir wählten zu unseren Untersuchungen das flüssige Polyäthylenglykol 400 (PÄG).

Über die in Abb. 1 wiedergegebenen Ergebnisse (die Versuchstiere sind durch Quadrate dargestellt) hinaus war auch nach einer

Expositionszeit von 4 Std eine Resorption von Phenol aus PÄG nicht nachzuweisen.

Die Resorption von Monomethylanilin aus PÄG war nur bei einigen Ratten durch einen geringen Methämoglobingehalt des Blutes angedeutet, während die Tiere sonst erscheinungsfrei blieben.

In weiteren Versuchen zeigte es sich, daß die unverletzte Rattenhaut für Phenolrot und Diäthylbarbitursäure undurchlässig ist, während Salicylsäure deutlich schlechter aus PÄG als aus Äthylalkohol und Erdnußöl aufgenommen wird. (Wir bestimmten die Salicylsäure im Urin.)

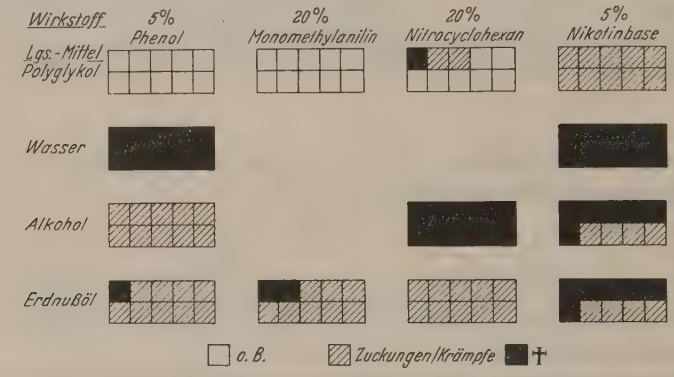


Abb. 1. Ergebnisse percutaner Resorptionsversuche an Ratten nach einer Expositionszeit von 120 min

γ-Hexachlorcyclohexan führte selbst nach 4stündiger Applikationsdauer in gesättigter PÄG-Lösung nicht zu Vergiftungssymptomen, jedoch nach kürzester Zeit in Benzin-Lösungen und protrahierter in Aceton und Erdnußöl.

Diese Ergebnisse legten nahe, PÄG zu prophylaktischen bzw. therapeutischen Zwecken zu benutzen, wenn percutan toxische Substanzen von der Haut zu entfernen sind.

Wir überzeugten uns in orientierenden Versuchen, daß Ratten, die auf einem rasierten Hautbezirk mit Phenolum liquefactum geätzt worden waren und ausnahmslos bereits Intoxikationssymptome zeigten, durch ein PÄG-„Bad" bei gleicher Versuchsanordnung in allen Fällen gerettet werden konnten, was weder durch mehrmalige Wasserwaschung noch durch einmalige Behandlung mit 40%igem Alkohol — und bei mehrmaliger Behandlung nur nach mehrstündiger Vergiftungsdauer — möglich war.

Die sich hier abzeichnenden therapeutischen Möglichkeiten standen jedoch nicht im Mittelpunkt unserer Untersuchungen. Diese sind vielmehr ein Beitrag zur Klärung der Frage, welche Bedeutung dem Lösungsmittel bei Resorptionsvorgängen zukommt.

Literatur

Schütz, E.: Med. Dissertation, Univ. Mainz, 1955.

H. Zeller (Ludwigshafen/Rh.): Zur Prüfung epidermal sensibilisierender Stoffe im Tierversuch

Die in den folgenden Versuchen angewandte tierexperimentelle Methode lehnt sich weitgehend an das von Graul u. Kalkhoff[1] beschriebene Vorgehen am Meerschweinchen an.

1. Stoffe mit epidermal sensibilisierender Wirkung

Unter 60 auf ihre hautsensibilisierende Wirkung am Meerschweinchen untersuchten Substanzen fanden sich neben den zum Vergleich mitgeprüften Verbindungen wie Dinitrochlorbenzol, p-Phenylendiamin und Formaldehyd 14 weitere Stoffe — darunter Butindirhodan, Fumarsäuredinitril, Vinylcarbazol, Toluolsulfosäuremethylester, Phenoxypropenoxyd —, die in dieser Versuchsanordnung eine Überempfindlichkeitsreaktion an der Meerschweinchenhaut bewirkten. Bei 9 dieser 14 Produkte wurde nach unseren Betriebserfahrungen auch an der menschlichen Haut eine Sensibilisierung beobachtet, wobei eine Überempfindlichkeit nur dann angenommen wurde, wenn die betreffenden Personen wiederholt durch dieselbe Substanz mit typischen Hauterscheinungen erkrankten und eine entsprechende Arbeitsanamnese, eine nachweisbare Inkubationszeit und gegebenenfalls positive klinische Testergebnisse aufwiesen.

Wenn die am Meerschweinchen nachgewiesene sensibilisierende Wirkung bei 5 Substanzen nicht mit entsprechenden klinischen Beobachtungen an der menschlichen Haut belegt werden kann, so ist der Grund darin zu suchen, daß es sich einmal um verhältnismäßig neue Stoffe handelt, die bisher nicht in größerem Maßstab hergestellt wurden, zum anderen, weil sie lediglich als Verunreinigung anderer technischer Produkte vorkommen und deshalb in der ärztlichen Sprechstunde nicht in Erscheinung treten. In solchen Fällen lassen sich erst bei genauerer experimenteller Analyse die für die Hautsensibilisierung ursächlichen Faktoren nachweisen.

Praktisch alle hautsensibilisierenden Stoffe führten selbst bei einmaliger, nur über 15 min anhaltender Einwirkung in entsprechenden Konzentrationen an der Haut des Kaninchenrückens zu akuten, entzündlichen Hautreizungen, ohne daß dabei Zeichen einer Sensibilisierung nachweisbar waren.

2. Hautreizende Stoffe ohne sensibilisierende Wirkung

Nachdem praktisch alle im Tierversuch hautsensibilisierenden Stoffe auch primär hautreizend wirken, wurde untersucht, ob etwa beim Meerschweinchen alle primär hautreizenden Substanzen grundsätzlich auch hautsensibilisierend wirken. Von 28 an der Meerschweinchen- und

Kaninchenhaut bei ein- oder mehrmaliger Applikation akut reizenden Substanzen bewirkte keine der vorwiegend aus der Gruppe der aliphatischen und aromatischen Amine stammenden Verbindungen, wie z. B. Äthylendiamin, Hexamethylendiamin, Diäthylentriamin, Dipropylentriamin und Diaminodicyclohexylmethan beim Meerschweinchen eine Hautsensibilisierung. Die am Tier gewonnenen Ergebnisse stimmen mit den in der Praxis des Betriebes gemachten ärztlichen Erfahrungen vollkommen überein. An der menschlichen Haut kommt es durch keine dieser Substanzen zu typischen Hautsensibilisierungen; es werden lediglich akute Hautreizungen, die zum Teil sogar unter dem Bild der Verätzung verlaufen, beobachtet.

3. Hautverträgliche und nicht sensibilisierende Stoffe

Verbindungen, die weder an der Meerschweinchen- noch an der Kaninchenhaut eine lokale Reizwirkung bzw. eine hautsensibilisierende Wirkung zeigten, lösen auch an der menschlichen Haut keine entsprechenden Schädigungen aus. Zu diesen Stoffen gehören unter anderem die bei den Sensibilisierungsversuchen verwendeten Lösungsmittel Alkohol, Aceton, Chloroform usw. wie auch Caprolactam, Thiuram-Abkömmlinge und andere.

Chloroform führt bei Verhinderung der Verdunstung im Tierversuch selbst bei einer Einwirkungszeit von nur 1—5 min zu starken, lokalen Reizerscheinungen. Unter Verwendung dieser Beobachtung wurde geprüft, ob es experimentell gelingt, durch einen zusätzlichen, unspezifischen Reiz die Meerschweinchenhaut so zu schädigen, daß gegebenenfalls selbst primär reizlose und nicht sensibilisierende Stoffe eine Überempfindlichkeitsreaktion an der Meerschweinchenhaut auszulösen vermögen. Auch wenn am Ort der Einwirkung zusätzliche, unspezifische, chemische (Chloroform) oder auch mechanische (Skarifizierung) Reize gesetzt wurden, waren solche hautverträgliche Substanzen nicht in der Lage, das Reaktionsvermögen des Hautorgans beim Meerschweinchen so zu verändern, daß spezifische Überempfindlichkeitsreaktionen ausgelöst werden konnten.

Da die Haut des Meerschweinchens unter der Einwirkung hautsensibilisierender und akut reizender Stoffe in der gleichen Weise reagiert wie die menschliche Haut, erscheint das Meerschweinchen als Versuchstier zur Prüfung der etwaigen hautsensibilisierenden Wirkung von neuen, in ihrer biologischen Wirkung unbekannten, chemischen Stoffen als geeignet.

Literatur

[1] Graul u. Kalkhoff, Arch. f. Dermat. **187**. 417—430 (1948).

J. Scholz (Höchst): Über Erfahrungen mit verschiedenen Methoden zur Ermittlung der Haut- und Schleimhautverträglichkeiten von Chemikalien

Für den in der Industrie tätigen Gewerbetoxikologen ist die Beurteilung der Hautverträglichkeit von chemischen Produkten nicht immer einfach, wenn er mehr oder weniger bindende Aussagen darüber machen soll, wie sich Produkte in dieser Hinsicht verhalten werden, wenn sie aus dem engen Kreis der im Umgang mit chemischen Stoffen geschulten Personen des Werkes in den weiten Kreis der sorglosen Verbraucher gelangen.

Basierend auf einem größeren Erfahrungsgut soll hier nicht über spezielle Stoffe berichtet, sondern lediglich auf die mit den geübten Methoden gemachten Erfahrungen eingegangen werden.

Die Schleimhautverträglichkeit prüfen wir wie üblich am Kaninchenauge und bewerten den Test mehr nach der qualitativen als nach der quantitativen Seite, da das als Substanz oder als Lösung in den Bindehautsack eingebrachte Präparat durch die Tränensekretion unkontrollierbar rasch ausgeschwemmt oder verdünnt wird. Maßgebend für die Beurteilung ist uns besonders Ausmaß und Dauer der Bindehautreaktion eventuell auch die der Tränenwege und der Nase. Dabei brauchen Hornhautschädigungen keineswegs mit der Schwere der Bindehautreaktion parallel zu gehen. Trübungen werden oft erst nach Tagen deutlich sichtbar.

Nun zu den Testen der Hautverträglichkeit und zu der Frage der Übertragbarkeit ihrer Ergebnisse auf den Menschen. Sehr viel bedeutender als die Unterschiede in der anatomischen Beschaffenheit zwischen der Haut unserer Labortiere und des Menschen erscheint mir zunächst die Differenz im Talgüberzug auf der Oberfläche. So findet man z. B. an der Haut der Innenseite des Kaninchenohres, die der menschlichen Haut am ähnlichsten bezeichnet wird, einen Fettfilm, der den auf der menschlichen Haut meines Erachtens wesentlich übertrifft. Auch sollte man bedenken, daß man im Falle stärkerer Reaktionen am Kaninchenohr die Tiere eines wichtigen Wärmeregulationsorganes beraubt, zumal das Ausmaß der Reaktion von dieser Funktion abhängen muß. Wir bevorzugen deshalb die mechanisch enthaarte Flankenhaut des Kaninchens, die empfindlicher als das Ohr zu sein scheint. Sie ist sogar empfindlicher als die Bauchhaut des Meerschweinchens oder der Ratte. In der Skala der Empfindlichkeit liegen die Objekte etwa in folgender Reihenfolge:

Kaninchenohr — Meerschweinchenbauch — Rattenbauch — und schließlich als empfindlichstes Objekt Kaninchenflanke.

Was nun die Reaktionen anbelangt, so ergibt sich aus unserem Beobachtungsmaterial, daß diese mehr als vorauszusehen p_H-abhängig

sind. Schon gering alkalische oder Alkali-abspaltende Substanzen führen besonders bei täglich wiederholter Behandlung — und die führen wir gewöhnlich durch — zur Erweichung, Risse- und Borkenbildung, während Säuren mehr zu nässenden Rhagaden führen. Hier geht die Reaktion etwa der menschlichen Haut parallel, pflegt aber ausgeprägter zu sein. Die unterschiedliche Pufferkapazität dürfte dies begründen. Zu abwegigen Beurteilungen kann man bei austrocknenden Substanzen kommen. So führen z. B. schon glycerinhaltige Cremes und Salben an der Kaninchenhaut unter Umständen zu heftigen Läsionen, während sie auf der menschlichen Haut gut vertragen werden.

Wir sehen daher den Unterschied im Wasserhaushalt der Haut als wesentliche Differenz zwischen Mensch und Tier an. Besonders die durch die Schweißbildung mögliche Durchfeuchtung der menschlichen Haut hat keine Parallele in der tierischen Haut. Unsere Versuche, diese zu imitieren, sind fehlgeschlagen. Beobachtungen aus der Praxis oder derart, daß im Tierversuch nach obigen Methoden geprüfte Substanzen trotz völlig negativen Ausfalles des Testes an schwitzenden Hautstellen erhebliche Reizwirkung beim Menschen zeitigten, bestätigen, daß die Quellung der Haut ein integrierender Faktor für den Transport der Substanzen zu den tieferen Schichten der Cutis darstellt, wo sich die entzündlichen Reaktionen abspielen.

Auf Grund solcher Überlegungen erschien uns ein von Barail für die Prüfung von Textilien auf Hautverträglichkeit angegebenes Verfahren wertvoll. Der Test beruht darauf, daß die betreffenden Substanzen durch intracutane Injektion, also unter Umgehung der problematischen Resorption durch die Epidermis direkt an den Ort der Reaktion herangebracht werden. Durch die Verwendung abgestufter Verdünnung nebeneinander wird zugleich ein vergleichbares Maß geschaffen. Praktisch sieht das so aus, daß innerhalb eines mechanisch enthaarten Hautbezirkes an der Flanke von Kaninchen von einer Verdünnungsreihe der betreffenden Lösung nebeneinander intracutane Injektionen gesetzt werden und die Reaktion nach Ablauf von 24 Std kontrolliert wird. Barail gibt als Menge 0,5 ml pro Injektion an, wir injizieren nur 0,02 ml unter Beibehaltung der Konzentrationsstufen von jeweils 1:10. Man kann auf diese Weise mehrere Stoffe am selben Tier prüfen. Für Vergleiche kann man das Ausmaß der Reaktion auf die zugeordnete Verdünnung nach einem Schema numerisch erfassen und so eine Art Punktsystem erhalten. Nicht wasserlösliche Substanzen können in Sesamöl gelöst werden, oder man stellt mit Hilfe physiologischer Kochsalzlösung — entsprechend der Originalmethode von Barail — durch längeres Digerieren (wir haben 4 Std bei 40° als ausreichend gefunden) Extrakte aus den zu prüfenden Stoffen wie Textilien, Kunststoffen, Pulvern usw. her und verdünnt diese ebenfalls in entsprechenden Stufen (1:10) weiter. Gerade in solchen Fällen kommt man mit diesem Test zu gut verwertbaren Resultaten. In Bestätigung von Barail konnten wir wiederholt auf dem Gebiet der Färberei- und Textilhilfsmittel wertvolle Aussagen hinsichtlich ihrer Hautverträglichkeit machen. Dies ermutigte uns, die Methode routinemäßig anzuwenden, und zwar wenn möglich, stets zusammen mit der epicutanen Prüfung.

Nach unseren bisherigen Erfahrungen hat sich eine völlig negative Reaktion bis zur höchsten Konzentration bisher immer als zuverlässig

erwiesen im Gegensatz zu den oft unsicheren negativen Resultaten bei nur epicutaner Prüfung. Der BARAIL-Test ist somit empfindlicher als die Epicutanteste. Betrachtet man nur die in diesem Zusammenhang wichtige Gruppe von Prüfungsergebnissen, bei denen bei epicutaner Anwendung keine Reizerscheinungen zu beobachten sind, der BARAIL-Test jedoch bei einigen oder allen Verdünnungsstufen positiv ausfällt, so kann man wohl für den Fall, daß nur die höchsten Konzentrationen allein z. B. 10% oder 1% wirken, einen p_H-Unterschied oder eine andere begrenzte vitale Kapazität des Gewebes als Ursache annehmen und bewerten. Dies gilt aber nicht mehr, falls noch bis zu hohen Verdünnungen, 1:1000 und höher, entzündliche Reaktionen am Injektionspunkt auftreten. Hier handelt es sich dann um Substanzen, die eine spezifische biologische Reaktionsfähigkeit besitzen, die aber im epicutanen Prüfungsverfahren aus Resorptionsgründen nicht in Erscheinung tritt. Meist erklärt sich diese Eigenschaft schon aus der chemischen Konstitution; zusätzlich kommen Verunreinigungen mit Nebenprodukten oder noch reaktionsfähigem Ausgangsmaterial in Betracht, soweit es sich um technische Produkte handelt. Auf die praktische Bedeutung der Methode im Zusammenhang mit solchen Feststellungen sei nur kurz hingewiesen. Viel wichtiger erscheint uns, daß man mit diesem einfachen Test Substanzen erfassen kann, die sich der epicutanen Prüfung entziehen, sei es deswegen, weil sie sich aus stofflichen Gründen nicht dazu eignen (Textilien und dergleichen) oder aus den mit der Resorption zusammenhängenden Gründen. Außerdem erlaubt es dieser Test Prognosen zu stellen, und zwar derart, daß zwar unter einfachen Bedingungen keine Hautreaktionen auftreten werden — daß aber unter Bedingungen, die eine Resorptionsbegünstigung erwarten lassen (Schweißbildung) auch mit Unverträglichkeitserscheinungen sowie mit Sensibilisierungen in bevorzugter Weise zu rechnen ist. Man kann also auch in dieser Richtung wichtige Schlüsse ziehen. Schließlich erlaubt das Verfahren in einfacher Weise die Auswahl aus verschiedenen Produkten mit gleichem technischem Effekt hinsichtlich der Chancen der Hautverträglichkeit oder Hinweise für die Wirksamkeit technischer Verfahren oder Schutzmaßnahmen zu geben.

Selbstverständlich beziehen wir uns bei der Beurteilung der Hautverträglichkeit eines Produktes unter Beachtung der praktischen Gesichtspunkte auf den Ausfall aller Teste, schenken aber doch auf Grund der vorliegenden Erfahrungen positiven Befunden im BARAIL-Test bei Konzentrationen von 10^{-3} und niedriger besondere Beachtung.

Literatur

BARAIL, L.: Proc. Amer. Ass. Textile Chem. a. Color. Amer. Dyestuff Reporter 1952, P 136—143.

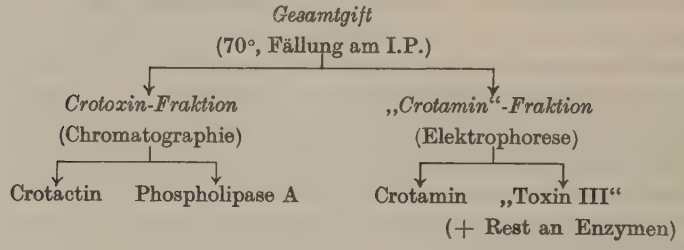
Diskussion. H. Oettel (Ludwigshafen): Der Kaninchenrücken bzw. die Kaninchenflanke ist zwar recht empfindlich gegen Reizstoffe, es gibt aber Substanzen, die am Ohr stärker reizend wirken als am Rücken, jedenfalls bei 20stündiger Einwirkungszeit. Uns scheint der Kurzzeittest (Exposition 1 min, 5 min und 15 min) mehr über die Gefahr beim Umgang mit den Reizstoffen auszusagen als die Prüfung bei 20stündiger Expositionszeit.

E. Habermann (Würzburg): Zur Pharmakologie des Giftes der brasilianischen Klapperschlange

Wie bei anderen, komplex zusammengesetzten Naturstoffen, mußte auch beim Klapperschlangengift der pharmakologischen Analyse eine chemische Bestandsaufnahme vorausgehen. Wir haben im Anschluß an Untersuchungen, über die auf dem letzten Kongreß berichtet wurde, ein kombiniertes Verfahren zur Auftrennung des Giftes in seine Komponenten ausgearbeitet und einige davon erstmals in Substanz gewonnen.

Die Aufarbeitung beginnt mit der partiellen Hitze- und Säuredenaturierung. Anschließend wird das sogenannte Crotoxin nach Slotta

Schema der Auftrennung von Klapperschlangengift



ausgefällt. Aus dem Überstehenden läßt sich dann — nach W. P. Neumann u. Habermann — durch Zugabe von Aceton oder Äthanol die sogenannte Crotaminfraktion niederschlagen. Aus der *Crotoxinfraktion* kann man durch Ionenaustauschchromatographie das Haupttoxin *Crotactin* gewinnen; Chromatographie an Aluminiumoxyd dagegen liefert *Phospholipase A*. Die *Crotaminfraktion* ist durch Elektrophorese in das stark basische *Crotamin* i.e.S. (Gonçalves) und eine nahezu elektroneutrale Unterfraktion zerlegbar, welche neben einem *dritten toxischen Prinzip* die nach Denaturierung übrigbleibende Aktivität des thrombinartigen Prinzips, das Hyaluronidase und noch Phospholipase A enthält. — Alle 4 Unterfraktionen ließen sich in Substanz und (außer „Toxin III") in befriedigender Reinheit erhalten.

Die bisher untersuchten pharmakologischen Wirkungen lassen sich in folgender Tabelle zusammenfassen:

Tabelle 1. *Pharmakologische Wirkungen der Fraktionen von Klapperschlangengift*

	Crotactin	Crotamin	„Toxin III"	Phospholipase
LD_{50}[1] (mg/kg)	0,10	1,0	0,15	5
Permeabilitäts-erhöhung[2]	++	+	+++	+
Histaminfreisetzung[3]	++	±	?	+
Erregung des Meer-schweinchenileums	++	+	?	++
Tod im Zustand von	Lähmung	Spasmen	Spasmen + Lähmung	Lähmung

[1] i. p., weiße Maus [2] Capillaren des Kaninchenrückens (Evans blue)
[3] Aus dem isolierten Rattenzwerchfell

Es lassen sich folgende Schlußfolgerungen ziehen:

1. Alle Komponenten sind mehr oder weniger toxisch; man kann also nicht mehr von „dem" Toxin des Klapperschlangengiftes sprechen.

2. Permeabilitätserhöhung, Histaminfreisetzung und Erregung des Meerschweinchenileums kann ebenso wie beim Bienengift durch mehrere Komponenten ausgelöst werden.

3. Enzymchemische und pharmakologische Wirkungen gehen nicht parallel. Bereits durch die Hitze- und Säurebehandlung werden die Phosphatasen ganz, Koagulase und Hyaluronidase weitgehend zerstört. Proteolyse und Bradykininfreisetzung waren bereits durch unser Ausgangsmaterial praktisch nicht zu erzielen. Das einzige relativ thermostabile Enzym, Phospholipase A, läßt sich schließlich in einer wenig giftigen Fraktion anreichern.

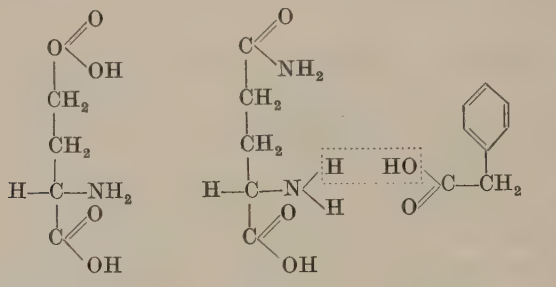
Wir glauben, daß die bei der Analyse dieses Giftes erzielten Einblicke in Zusammensetzung und Zusammenwirken für das Verständnis anderer tierischer und auch bakterieller Giftstoffe wertvoll sein werden.

V. Klingmüller und G. Strohmeyer (Hamburg): Entgiftung aromatischer Säuren nach dem Glutaminursäureprinzip

Die Glutaminsäure ist für den Biochemiker deswegen so interessant, weil sie an einer zentralen Stelle, an einem Kreuzpunkt des Intermediärstoffwechsels steht: Sie hat infolge ihres leichten Überganges in α-Ketoglutarsäure auf verschiedenen enzymatischen Wegen zum Citronensäurecyclus Beziehungen und durch Abgabe und Aufnahme von Aminostickstoff Beziehungen zum Stickstoff- und Eiweiß-Stoffwechsel, wobei sie anorganisches Ammonium in die organische Aminogruppe überführen und verteilen kann. Sie hat also eine Kohlenstoff-Funktion und eine

Stickstoff-Funktion. Diese beiden Funktionen hat die Glutaminsäure in der gesamten belebten Welt; nur die so ähnliche Asparaginsäure kann ähnliches leisten[7].

Im Harn werden geringe Mengen freier Glutaminsäure und eine etwa 10fach größere Menge verschiedener Formen von gebundener Glutaminsäure ausgeschieden, wobei es sich zum Teil um Verbindungen nach dem Glutaminursäureprinzip handelt:



Glutaminsäure Glutamin Phenylessigsäure

Glutaminursäure

Es war die Frage, ob hier ein allgemeiner Ausscheidungs- oder Entgiftungsmechanismus vorliegt, der auch für aromatische Säuren, die zum Teil toxische Eigenschaften haben, gilt. In diese Überlegungen passen auch die Untersuchungen von Cedrangolo et al.[2], nach denen gleichzeitige Verabreichung von Glutaminsäure die Toxicität von Isonicotinsäurehydrazid herabsetzt. Zbinden u. Studer[13] haben zwar keine Besserung histologisch erkennbarer INH-Schädigungen gesehen, G. Hecht[5] aber konnte mitteilen, daß die LD 50 von Isonicotinsäurehydrazid nach oraler und subcutaner Verabreichung bei Ratte und Maus auf etwa das Doppelte heraufgeht, wenn man gleichzeitig Glutaminsäure verabreicht.

Neben dem Glykokoll scheinen von den Aminosäuren, die vom Organismus zur Entgiftung herangezogen werden, die Monoaminodicarbonsäuren und ihre Amide wichtig zu sein. Die aromatischen Säuren werden nach Carboxylaktivierung an die α-Aminogruppe peptidartig gebunden, wobei in der Regel die Lipoidlöslichkeit sinkt und die Wasserlöslichkeit zunimmt.

Um den Umfang derartiger Reaktionen festzustellen, wurden die Ausgangsstoffe bei in vivo-Versuchen nach dem Verfahren von Thierfelder u. Sherwin[13] einem Organismus per os verabreicht oder bei in vitro-Versuchen nach Borsook[1], Chantrenne[3], Cohen[4], Leuthardt u. a.[9] mit Leber- und Nierenschnitten bei 37° C in Luftatmosphäre 3—6 Std inkubiert; als Inkubationsmedium wurde Krebs-Henseleit-Puffer verwendet und Adenosintriphosphorsäure (ATP), Magnesiumsulfat,

Ammoniumacetat, Glucose und Cystein zugesetzt. Die basische Gruppe wurde von Glutamin oder Asparagin bzw. Glutaminsäure selber geliefert; als Säuren wurde Benzoesäure, Phenylessigsäure, β-Phenylbuttersäure und p-Aminosalicylsäure getestet. Die Reaktionsprodukte wurden papierchromatographisch identifiziert. Ihr Nachweis auf dem Papier erfolgte durch eine Kombination aus Fluorescenz im ultravioletten Licht, Spray mit acidimetrischen Indicatoren, Ninhydrin oder Ehrlichs Reagens und durch Behandlung mit Chlor und anschließender Reaktion mit Jod-Stärke- oder Tolidin-Lösung (nach Rydon et al.[11], Reindel et al.[10] und O. Schmid[12] ausgeführt.

Wenn man den Schnitten Benzoesäure anbot und Glykokoll, Glutaminsäure, Glutamin oder Asparagin zusetzte, fanden wir immer eine Bildung von Hippursäure. Wenn man Phenylessigsäure anbot, fand man mit Glutaminsäure, Glutamin und Asparagin sowohl mit Leberschnitten als auch mit Nierenschnitten papierchromatographisch Flecke, die mit Flecken von chemisch synthetisiertem Phenylacetylglutamin oder Phenylacetyl-asparagin identisch waren. p-Aminosalicylsäure lieferte ebenfalls mit Leber- und Nierenschnitten sowohl mit Glutamin als auch mit Asparagin Kupplungsprodukte; sie wurden nicht weiter untersucht, weil inzwischen ausführliche Arbeiten von Lauener et al.[8] und Kawamata et al.[6] bekannt geworden sind. Dagegen wurden Versuche mit β-Phenylbuttersäure angestellt; es wurden papierchromatographisch Flecke gefunden, die sich als Peptide erwiesen. Auch im Harn von Versuchspersonen[14] wurden ähnliche Flecke aufgefunden; es bleibt zur Zeit unentschieden, ob diese Flecke das Glykokoll- oder das Glutamin-Kupplungsprodukt sind.

Zusammengefaßt kann gesagt werden, daß außer natürlich im Stoffwechsel vorkommender aromatischer Säuren auch pharmakologisch wichtige Verbindungen an Glutamin und Glutaminsäure gekoppelt im Harn ausgeschieden werden. Damit ist zugleich gezeigt worden, daß die Glutaminsäure auch für die Pharmakologie von Interesse ist.

Literatur

[1] Borsook, H., and J. W. Dubnoff: J. of Biol. Chem. **168**, 397 (1947). — [2] Cedrangolo, F.: Sci. med. ital. **3**, 450 (1955). — [3] Chantrenne, H.: J. of Biol. Chem. **189**, 227 (1951). — [4] Cohen, P. P., and R. W. McGilvery: J. of Biol. Chem. **171**, 121 (1947). — [5] Hecht, G.: persönl. Mitt. — [6a] Hiratani, T., N. Kunira and J. Kawamata: Med. J. of Osaka Univ. **6**, 947 (1956). — [6b] Kawamata, J., and T. Hiratani: Med. J. of Osaka Univ. **6**, 417 (1955). — [6c] Kawamata, J. and T. Hiratani: Med. J. of Osaka Univ. **6**, 683 (1955); — [6d] Kawamata, J., and K. Kashiwagi: Med. J. of Osaka Univ. **6**, 119 (1955). — [6e] Kawamata, J., and M. Yachicu: Med. J. of Osaka Univ. **5**, 139 (1954). — [7] Klingmüller, V.: Biochemie, Physiologie und Klinik der Glutaminsäure. Aulendorf 1955. — [8] Lauener, G., J. Hodler, G. Favez, E. Dettwieler u. L. Hadorn: Klin. Wschr. **1957**, 393. — [9] Leuthardt, F.: Z. physiolog. Chem. **270**, 113 (1941). — [10] Reindel, F.. u. W. Hoppe: Naturwissenschaften **40**, 221 (1953). — [11] Rydon, A.N., and P. W. G. Smith: Nature (Lond.) **169**, 922 (1952). — [12] Schmid, O.: persönl. Mitt. — [13] Thierfelder,

H., u. C. P. Sherwin: Z. physiolog. Chem. **94**, 1 (1915). — [14] Voigt, K. D., u. K. H. Sartori: Unveröffentlichte Versuche. — [15] Zbinden, G., u. A. Studer: Experientia (Basel) **12**, 442 (1956).

G. Peters und H. Vorherr (Mainz): Akute morphologische Veränderungen der Nieren bei osmotischer Diurese

Form und Dimensionen der Nierentubuli werden im allgemeinen als innerhalb kurzer Zeiträume (Minuten) einigermaßen konstant angesehen. Es erschien daher überraschend, daß bei Mäusen und Ratten nach der i.v. Injektion von 6fach hypertonischer Mannit- oder Na_2SO_4-Lösung besonders starke Tubuluserweiterungen im Rindenbereich auftraten. Zur Klärung des Befundes wurde an 60—100 g schweren weiblichen Ratten der Einfluß der osmotischen und der Wasserdiurese auf Dimensionen und Form der Tubuli systematisch untersucht. Zur Ausmessung wurden mit Carnoyscher Lösung fixierte, mit Hämatoxylin-Eosin gefärbte Präparate verwandt; eine Niere wurde sofort nach Durchtrennung der Tiere in Höhe des Zwerchfelles entnommen und fixiert. Von der zweiten Niere wurde jeweils das Trockengewicht bestimmt. — Die Injektion von 0,5 ml 30% Mannitlösung i.v. und in geringerem Maß die Injektion einer gleichfalls 6fach hypertonischen Na_2SO_4-Lösung hatten innerhalb von 5 min eine wesentliche Erweiterung der Lumina der proximalen (Durchmesser bei Kontrollen $4{,}58 \pm 0{,}33\,\mu$, nach Mannit $13{,}91 \pm 0{,}82\,\mu$, nach Sulfat $10{,}80 \pm 0{,}98\,\mu$) und der distalen Tubuli (bei Kontrollen $10{,}64 \pm 0{,}49\,\mu$, nach Mannit $14{,}24 \pm 0{,}98\,\mu$, nach Sulfat $13{,}42 \pm 0{,}95\,\mu$) der Nierenrinde sowie der dünnen Teile der Henleschen Schleifen und der kleinen Sammelröhren an der Markrindengrenze zur Folge. Die Oberfläche der Tubulusepithelzellen im Schnitt senkrecht zur Tubulusachse war nicht verändert, eine Volumenveränderung der Tubulusepithelien daher unwahrscheinlich. Gleichzeitig war der Wassergehalt des Nierengewebes von $77{,}3 \pm 0{,}1$ auf $80{,}1 \pm 0{,}3\%$ gesteigert. Hypertonische mit der Mannitlösung isoosmotische Lösungen von NaCl und von Glucose bewirkten keine Tubuluserweiterung; hypertone NaCl-Lösung steigerte den Wassergehalt des Nierengewebes nicht, hypertone Glucoselösung nur auf $78{,}0 \pm 0{,}3\%$. Auf der Höhe einer Wasserdiurese war die Form der Tubuli gegenüber durstenden oder mit ganz geringen Mengen 0,9% NaCl-Lösung behandelten Kontrolltieren unverändert; der Wassergehalt des Nierengewebes auf $78{,}4 \pm 0{,}3\%$ gesteigert. Wasserdiurese und die osmotischen Diureseformen waren so eingestellt, daß die Harnmenge pro Minute ungefähr gleich groß war. Die morphologischen Befunde wurden mit den Veränderungen der Nieren bei Harnstauung durch Abbindung des Ureters verglichen. Die Befunde wurden im Zusammenhang mit der Theorie der osmotischen und der Wasserdiurese diskutiert.

F. Leuschner (Erlangen): Über die celluläre Bindung und Umsetzung des Salyrgans in Beziehung zur Diurese

Besonderheiten bei der Verteilung des Salyrgans im Körper und bei der Ausscheidung durch die Nieren lassen auf Umsetzungen dieser Hg-Verbindung im Organismus schließen. Salyrgan wurde deshalb auf seine chemische Reaktionsfähigkeit in der isoliert durchströmten Niere und Leber geprüft.

Die Durchströmung der Organe, die von Mäusen und Meerschweinchen entnommen waren, erfolgte in einer Apparatur, die aus einem großen temperierten Warburg-Gefäß mit Umwälzpumpe bestand. Die O_2-Sättigung der Durchströmungsflüssigkeit gewährleistete ein Oxygenatorturm im Glasgefäß, auf dessen oberer Öffnung das Organ lagerte. Der Harn wurde im Glasgefäß in einem Gummibeutel aufgefangen.

Bei der Durchströmung der Niere wird Salyrgan rasch aus der proteinfreien Durchströmungsflüssigkeit aufgenommen und gebunden. Beim Angebot von Salyrgan-Mengen, die diuretischen Konzentrationen in der Niere entsprechen, beträgt die Halbwertszeit der Aufnahme etwa 4 min. In den Harn werden nur unbedeutende Hg-Mengen abgegeben. Dieser Verteilungszustand ändert sich in den folgenden 60 min nur wenig.

Die isolierte Leber verhält sich anders gegen Salyrgan. Anfangs wird das Hg ebenfalls rasch aufgenommen (Halbwertszeit etwa 4—5 min); dann setzt ein gegenläufiger Prozeß ein: Der Hg-Gehalt der Durchströmungsflüssigkeit steigt wieder an. Nach 60 min sind etwa 70% des angebotenen Hg wieder außerhalb der Leber.

Eine Deutung dieses unterschiedlichen Verhaltens von Leber und Niere gestattet die Analyse der Hg-Verbindungen, die aus der Leber ausgeschieden werden. Die vornehmlich papierchromatographisch geführte Untersuchung ergab, daß Hg in Form löslicher Mercaptide vorlag. Über 40% dieser S-haltigen Hg-Substanzen ließen sich als eine Verbindung von Salyrgan und Cystein erkennen. Für die Festlegung der Struktur waren R_f-Werte in mehreren Lösungsmittelgemischen, der Vergleich mit der synthetischen Verbindung, Hg- und S-Gehalt, UV-Absorption bei 289 nm und der Nachweis des abgespaltenen Cysteins maßgebend. Die vergleichenden Untersuchungen an Leber und Niere berechtigen zur Annahme, daß die Hg-Anreicherung in der Salyrganniere Folge der renalen Unfähigkeit ist, rasch wasserlösliche Hg-mercaptide zu bilden und an die Durchströmungsflüssigkeit abzugeben.

Das Salyrgan-L(+)-Cystein (1:1) besitzt bei weitgehender Maskierung der chemischen Reaktionsfähigkeit des Hg eine sehr gute Löslichkeit im physiologischen p_H-Bereich. Beide Eigenschaften sind beim Salyrgan in geringerem Maße entwickelt. Die Reaktionsträgheit und gute

Löslichkeit des Salyrgan-Cysteins läßt sich auch an der isolierten Niere beobachten. Das Mercaptid wird nach der Aufnahme vom Nierengewebe — im Gegensatz zum Salyrgan — rasch in den Harn ausgeschieden.

Es erhebt sich die Frage, ob diese in-vitro-Verhältnisse über die Verteilung und Umsetzung des Salyrgans auf den Organismus übertragbar sind. Eine einfache Untersuchungsmöglichkeit ergab sich in der Analyse der Harnausscheidungsprodukte nach Salyrganinjektion beim Menschen. Die Untersuchung zeigte, daß zwei Hg-Verbindungen im Harn vorherrschen. Beide enthalten sie Salyrgan. Das Hauptausscheidungsprodukt entspricht dem Salyrgan-Cystein; eine geringe Fraktion verhält sich papierchromatographisch wie freies Salyrgan. Zwei kleine Nebenfraktionen sind unbekannte Hg-mercaptide. Salyrgan-Cystein wird vornehmlich vor und in der Anfangsphase der Diurese ausgeschieden und entspricht der Hg-Flut von Saxl u. Heilig. Freies Salyrgan tritt etwa parallel zur Harnvermehrung auf.

Die chemischen Umsetzungen, die zum pharmakodynamischen Verhalten des Salyrgans im Organismus führen, bestehen offenbar in der Bildung gut löslicher, reaktionsträger Salyrganmercaptide. Es kann angenommen werden, daß die Niere, der diese Art von Mercaptidbildung fehlt, das injizierte freie Salyrgan aus dem Blute abfiltriert und anreichert. Die hohen Hg-Konzentrationen in der Niere nach Salyrganinjektion finden in diesem Vorgang eine Deutung. Das Salyrgan-Cystein dagegen, das bei der Passage durch die mercaptidbildenden Organe — z. B. die Leber — entstanden ist, wird ungehindert durch die Nieren ausgeschieden. Die Harngängigkeit erfolgt dabei so rasch, daß diesem Mercaptid kaum eine wesentliche direkte Bedeutung bei der Diurese zukommen dürfte. Diese Folgerung steht im Einklang mit früheren Untersuchungen, nach denen in der Anfangsphase der Diurese vornehmlich fest gebundenes und nicht frei bewegliches Salyrgan in der Niere angetroffen wurde. Die diuretische Salyrgankonzentration in der Niere wäre danach das Ergebnis einer Konkurrenz zwischen mercaptidbildenden Organen und der salyrgananreichernden Niere.

Eine größere Bedeutung kann das Salyrgan-Cystein für die Hg-Diurese bei der häufig geübten zusätzlichen Verabreichung von säurebildenden Salzen erhalten. Bei zunehmender Wasserstoffionenkonzentration im Gewebe spalten sich aus der Salyrgan-Cystein-Verbindung weniger gut lösliche Hg-mercaptide ab, die zu einer Erhöhung der renalen Hg-Konzentration und verstärkten Diurese führen können.

Diskussion. U. G. Bijlsma (Utrecht): Clausen hat vor etwa 30 Jahren beobachtet, daß nach Salyrgangabe die Galle eine noch nicht definierte diuretische Substanz enthält. Geben die Versuche des Vortragenden eine Andeutung in dieser Richtung?

Schlußwort F. Leuschner: Die Stabilität des Salyrgans im Organismus läßt als diuretische Substanz der Galle das unveränderte Salyrganmolekül oder ein diuretisch wirksames Derivat erwarten.

R. Engelhorn (Biberach): Aktionspotentiale der Nierennerven

Bei Katzen in Numal-, Chloralose- oder Chloralose-Urethan-Narkose wurden die Nierennerven zur Ableitung von Aktionspotentialen freigelegt. Gleichzeitig wurden das EKG und der Blutdruck registriert. Folgende 3 Fragen sollten in den Untersuchungen geklärt werden:

1. Art und Verlaufsrichtung der Nervenimpulse.

2. Ihr Verhalten nach Carotisabklemmung, Asphyxie und Entblutung.

3. Veränderungen nach Gabe blutdrucksteigernder oder -senkender Pharmaka.

Ergebnisse

Die von den Nierennerven abgeleiteten Potentiale liefen zentrifugal und waren in Salven zusammengefaßt, die herzsynchron auftraten. Sie waren in der Numal-Narkose schärfer voneinander abgesetzt als in der Chloralose- oder Chloralose-Urethan-Narkose. Durchschneidung der Halsvagi oder beider Äste des Bauchvagus hatten keinen Einfluß auf das Aktionsstrom-Bild. Nach Abklemmung beider Carotiden stieg zusammen mit dem Blutdruck die Zahl der Nervenimpulse an, ein Effekt, der bis zur Lösung der Klemmen anhielt. Sowohl bei der Entblutung als auch bei der Asphyxie durch Abklemmung der Trachealkanüle traten ebenfalls vermehrte Impulse auf, die zu Dauerentladungen verschmolzen. Dieser Vorgang konnte bei der Asphyxie durch Öffnung des Trachealverschlusses wieder rückgängig gemacht werden.

Auf die Gabe deutlich blutdrucksteigernder Mengen von Adrenalin oder Noradrenalin (2—5 γ/kg) hörten die Nervenentladungen auf. Sie kehrten erst nach Erreichen oder Überschreiten des maximalen Blutdruckeffektes wieder auf. Kleine Mengen von Adrenalin (0,5 oder 0,25 γ/kg) senkten den Blutdruck und waren von Mehrentladungen der Nerven begleitet. Dieselben Mengen von Noradrenalin hatten dagegen nur einen leichten Druckanstieg, aber keine Nervenreaktion mehr zur Folge. Nach Vasopressin (1 VE/kg) kam es ebenfalls zu einer Entladungspause und zum Anstieg des Blutdruckes. Die Pause hielt jedoch wesentlich länger an als bei Adrenalin oder Noradrenalin. Sie war auch nach Injektion Blutdruck-unwirksamer Mengen (0,1 oder 0,05 VE/kg) zu sehen.

Acetylcholin und Histamin führten zu massiven Mehrentladungen, die nach Histamin länger anhielten und deren Amplitude größer war als nach Acetylcholin (5—10 γ/kg). Die Steigerung der Impuls-Frequenz

hielt über den Tiefpunkt der Blutdrucksenkung hinaus an und normalisierte sich erst wieder im aufsteigenden Teil der Kurve.

Die durch Adrenalin (5—10 γ/kg) hervorgerufene Entladungs-Pause konnte durch Injektion der gleichen Menge von Acetylcholin durchbrochen und durch massive Mehrentladungen ersetzt werden. Zusammen damit kam es zu einem steilen Blutdruckabfall.

In allen Versuchen setzte die nervöse Reaktion erst etwa 5 sec nach Beginn der Blutdruckveränderungen ein.

Aus diesen Ergebnissen wird geschlossen, daß die abgeleiteten Nervenpotentiale von postganglionären sympathischen Fasern stammen. Das Verhalten der Aktionsströme wird als Anpassungs-Reaktion an die auf anderem Wege hervorgerufenen Kreislaufänderungen angesehen.

Diskussion. F. Brücke (Wien): Nehmen die Nierengefäße (oder die Aktionspotentiale der Nierennerven) an den Carotis-Sinusreflexen teil? Antwort: Ja.

G. Peters (Mainz): 1. Unterscheiden sich die AP der „Nierennerven" von denen anderer Gefäßnerven? Wenn ja, worin? Werden sie durch Pharmaka, die die Nierenfunktion beeinflussen, ohne starke vasculäre Wirkungen zu zeigen, beeinflußt?

2. Wenn die AP der Nerven der Nierenarterie sich nicht von denen anderer Arterien unterscheiden, ist es nicht überraschend, daß die Nieren in gleicher Weise wie andere Arterien durch Gefäßreflexe beeinflußt werden?

S. Janssen (Freiburg/Br.): Frage: Halten Sie einen Einfluß der Chemorezeptoren für möglich? Antwort: Ja.

Frage: Glauben Sie, daß Änderungen der Wandspannung im Bereich des Carotissinus einen Einfluß auf die registrierten Potentiale haben? Antwort: An diese Möglichkeit wurde zur Erklärung meiner Ergebnisse gedacht. In diese Richtung gehende Untersuchungen wurden jedoch noch nicht durchgeführt.

Schlußwort R. Engelhorn: Frage 1: Sagen die berichteten Ergebnisse schon etwas über die Gefäßwirkung aus?

Frage 2: Lassen sich daraus Rückschlüsse auf die diuretische oder antidiuretische Wirkung ziehen?

Antwort 1: Über die Gefäßwirkung läßt sich nichts sagen. Die von anderen Autoren gemachte Beobachtung, daß nach Durchschneidung der Nerven eine Vermehrung, nach Reizung der Nerven eine Verminderung der Harnmenge auftrat, wurde in meinen Versuchen nicht nachgeprüft.

Im übrigen müssen zwei verschiedene Mechanismen eine Rolle spielen. Bei fraktionierter Entblutung wird die „Adrenalin-Pause" von Schritt zu Schritt kleiner, die Nervenentladungen gehen in Dauerentladungen über, die Adrenalin-Blutdrucksteigerung ist jedoch nach wie vor zu sehen.

S. Janssen (Freiburg/Br.): Die Wirkung von Hinterlappenhormonen auf die Wärmebildung von Rinde und Mark der Niere

Aus den Temperaturdifferenzen zwischen dem Blut der Nierenarterie und dem Blut der Vene oder der Nierenrinde und des Nierenmarkes kann man die Temperaturverteilung der einzelnen Schichten und damit

der Niere festlegen. Bezieht man die gemessenen Temperaturen auf die Masse von Rinde und Mark, so ergibt sich der *Wärmeinhalt* (cal) der Niere und aus der Temperaturdifferenz Vene/Arterie und der Größe der Durchblutung — gemessen mit dem Bubble-flow-meter (BFM) — der *Wärmeabfluß* aus der Vene (in cal pro Minute). Man kann nun folgende Bilanzrechnung aufstellen: Wärmeabfluß ± Differenz der Wärmeinhalte in der Minute ergeben die Wärmebildung in cal/Minute. Die *Wärmebildung* gibt den Stoffwechselumsatz in der Niere quantitativ wieder. In unseren Untersuchungen schien uns die Frage nach dem Zusammenhang zwischen Wärmebildung und Durchblutung vordringlich.

Im *stabilen Zustand* ist der Wärmeabfluß gleich der Wärmebildung. Der Wärmeverlust durch die Oberfläche, den Harn und die Lymphe dürfte innerhalb der Fehlergrenze (2—5%) liegen und kann vernachlässigt werden. Im *dynamischen Zustand* haben Änderungen des Wärmeinhaltes größere Bedeutung. Dabei wäre die Wärmebildung (cal/Minute) gleich dem Wärmeabfluß (cal/Minute) ± den Änderungen der Wärmeinhalte (± Differenz der cal/Minute).

In einem Beispiel des *stabilen Zustandes* verhielt sich bei einem Hund von 14 kg in Numalnarkose die Rektaltemperatur konstant, der Blutdruck sinkt allmählich von 100 auf 77 mm Hg. Die Durchblutung der Nierenvene wird stärker und die Differenz der Temperatur des Blutes in Vene und Arterie geringer. Die Bilanzberechnung ergab: der Wärmeabfluß verhielt sich um 14% schwankend, aber konstant, der Wärmeinhalt nahm um 40% ab, die Wärmebildung bleibt mit 15% Schwankungen über eine Stunde konstant. Daraus folgt: im stabilen Zustand sind Wärmebildung und Wärmeabfluß von gleicher Größe und über eine Stunde konstant. Der Wärmeinhalt der Niere schwankt stärker und ist abhängig von der Durchblutung. Aus dem Wärmeinhalt und dem Wärmeabfluß durch die Vene kann die Zeit berechnet werden, in der der Wärmeinhalt durch die Vene ausfließt, von uns als „Wärmeumlaufzeit" bezeichnet. Bei gutem allgemeinem Kreislauf und guter Durchblutung der Niere (größer als 2,4 ml/g/min) wird der Wärmeinhalt der Niere 2—4mal in der Minute ausgeworfen. Die „Wärmeumlaufzeit" beträgt 15—32 sec. In Versuchen mit schlechten Kreislaufverhältnissen mit einer Wärmeumlaufzeit von 40—60 sec oder mehr ist die Wärmebildung der Niere aber von der Durchblutung abhängig. Die Selbstregulation des Stoffwechsels und der Wärmebildung hört dann auf.

Im *dynamischen Zustand*, der durch die intravenöse Injektion von 0,5 VE Hypophysin hervorgerufen wurde, steigt der Blutdruck. Die Durchblutung zeigt nach kurzer Zunahme eine Abnahme. Die Wärmebildung steigt kurz an und sinkt darauf stark ab, die Wärmeumlaufzeit

wird stark verzögert. Der Wärmeinhalt des Nierenmarkes bleibt fast unverändert, der der Nierenrinde steigt stark an und dementsprechend auch der Wärmeinhalt der ganzen Niere.

Versuchsergebnisse

Unter normalen Bedingungen bei gutem Kreislauf ist die Wärmebildung der Niere von der Durchblutung unabhängig und kann 2—3 Std konstant gehalten werden.

Sinkt der Blutdruck unter 80 mm Hg, die Nierendurchblutung unter 2,4 ml/gr/min und steigt die Wärmeumlaufzeit über 30 sec, so wird die Wärmebildung von der Durchblutung abhängig.

Bei schnellen Veränderungen des arteriellen Kreislaufs verändert sich der Wärmeinhalt der Niere und ist bei einer Bilanzberechnung zu berücksichtigen.

Die fortlaufende Registrierung der Temperaturdifferenzen und der Durchblutung der Niere mit dem BFM ermöglicht eine ununterbrochene Beobachtung und gestattet, kurze Änderungen von Wärmeabfluß, Wärmeinhalt und Wärmebildung an der Niere festzustellen.

G. Grupp (Freiburg/Br.): Der Einfluß von Adrenalin und Nor-Adrenalin auf die Durchblutung und Wärmebildung der Niere

Der Einfluß von Adrenalin und Nor-Adrenalin auf die Wärmebildung und die Durchblutung der Hundeniere wurde mit der Methode nach Janssen und Grupp untersucht. Der Nierenstoffwechsel, der sich in der Wärmebildung ausdrückt, kann durch die Hormone des Nebennierenmarks beeinflußt sein, weil diese eine Vermehrung der Wasser- und Kochsalzausscheidung hervorrufen. Besonders interessant war es, den Einfluß der genannten Hormone auf die Durchblutung der Niere kennenzulernen. Die Niere erhält etwa $^1/_4$ des Herzminutenvolumens und müßte infolgedessen bei schnellen Änderungen der Blutverteilung im Körper betroffen sein.

Bei kleinen Dosen Adrenalin und Nor-Adrenalin finden wir eine Vermehrung der Wärmebildung bis zu 5 min. Bei größeren Dosen (über 4 γ/kg) kommt es zu einer Einschränkung der Wärmebildung, die auf die Durchblutungsverminderung während der Hormonwirkungen zurückgeführt wird.

Adrenalin und Nor-Adrenalin beeinflussen die Nierendurchblutung quantitativ verschieden. Die Hemmung durch Adrenalin ist wesentlich größer als die durch Nor-Adrenalin. Außerdem heben beide Hormone ab 4 γ/kg die Autoregulation der Nierendurchblutung auf. Zu diesen Wirkungen kommt noch eine Veränderung der Blutzirkulation in der Niere.

Es zeigt sich nämlich bei gleichzeitigen Wärmemessungen in der Nierenrinde und im Nierenmark, daß die Nierenrinde erheblich wärmer wird, ohne daß diese Wärme in der Vene erscheint. Dies deutet darauf hin, daß während des Wärmeanstiegs in der Nierenrinde diese nicht durchblutet wird. Da aber die Gesamtdurchblutung der Niere in diesem Zeitpunkt nur um etwa 30% eingeschränkt ist, muß es in der Niere nicht cortical-verlaufende Blutwege geben, die ein erhebliches Blutvolumen durchlassen. Dies bedeutet eine experimentelle Bestätigung des Trueta-Phänomens, ohne allerdings etwas über die Wege der Umleitung auszusagen.

K. Hierholzer (Freiburg/Br.): Indirekte calorimetrische Messungen an der Niere

Es war die Frage zu prüfen, ob die Wärmebildung der Niere (direkte Calorimetrie) und der zur selben Zeit gemessene Sauerstoffverbrauch (indirekte Calorimetrie) die gleiche Stoffwechselgröße der Niere ergeben. Die vorgelegten Ergebnisse sind aus Versuchen gewonnen, die zusammen mit Grupp und Janssen durchgeführt wurden.

Wärmebildung und Sauerstoffverbrauch der Niere sind im gleichen Versuch an intakten Hundenieren in situ gleichzeitig gemessen. Die A-V-Differenz der Blutproben aus Aorta und Vena Renalis wurde im v. Slykeschen Apparat bestimmt. Vergleichbare Untersuchungen am Nerven wurden bisher von Gerard, Hill und Zottermann jedoch nur für isolierte Organe angegeben. Die Verff. maßen den O_2-Verbrauch und die Wärmetönung jedoch zu verschiedenen Zeiten in 2 getrennten Versuchsreihen.

Die Ergebnisse unserer indirekten, calorimetrischen Messungen sind summarisch den direkten Werten der Wärmebildung gegenübergestellt.

Im Einzelnen ergab sich in 18 von 31 gleichzeitigen Doppelbestimmungen aus Wärmemessung und Sauerstoffcalorimetrie innerhalb $\pm$ 25%. 10 Wertpaare unterschieden sich um weniger als $\pm$ 10%. Bei 5 Wertpaaren fand sich eine *Mehr*anzeige der O_2-Calorimetrie um mehr als + 25%, bei einer maximalen Abweichung von + 171%; bei weiteren 8 Doppelbestimmungen eine *geringere* Anzeige der indirekten Calorimetrie um mehr als — 25% (maximal — 72%).

In die Fehlerbreite von $\pm$ 25% gehen die Fehler der einzelnen an der Messung beteiligten Methoden ein: Fehler der arteriovenösen Temperaturdifferenzmessung, der arteriovenösen O_2-Differenzmessung und der Durchblutungsmessung (mit BFM).

Die Differenz der weiter als + oder (—) 25% voneinander abweichenden Ergebnisse gleichzeitiger Messungen muß als real angesehen werden. Über deren Ursache kann noch nichts Endgültiges ausgesagt werden.

G. Senft (Berlin-Dahlem): Qualitative und quantitative Beziehungen zwischen Nebennierenrinde und Neurohypophyse bei der Regulation des Wasser- und Salzhaushaltes

Mit 1 Textabbildung

Bei den Untersuchungen über die hormonale Regulation des Wasser- und Salzhaushaltes konnten Befunde für das Bestehen eines Antagonismus zwischen den Hormonen der Nebennierenrinde und des Hypophysenhinterlappens beigebracht werden, der für die Aufrechterhaltung des normalen Wasser- und Salzbestandes im Körper verantwortlich ist. Diese Theorie stützt sich unter anderem auf folgende Versuchsergebnisse:

Bei adrenalektomierten Tieren treten unter Zufuhr von Wasser- oder Salzlösungen Ödeme auf. Die Entstehung dieser Retentionen ist durch eine Störung des funktionellen Gleichgewichtes zwischen Neurohypophyse und Nebennierenrinde mit nachfolgender vermehrter Ausschüttung des antidiuretischen Hormones erklärt worden. Durch vorherige Gabe von Nebennierenrindenhormonen können die Ödeme verhindert werden. Diese diuretischen Wirkungen der Cortine bzw. Cortinoide wurden erstmalig 1941 von Corey und Britton für das Desoxycorticosteron nachgewiesen und durch eigene Versuche unter anderen Bedingungen auch für das Prednison und Prednisolon bestätigt.

Die Versuchsergebnisse ließen den Schluß zu, daß sowohl die Gluco- als auch die Halocortine qualitativ gleiche antagonistische Wirkungen gegenüber dem antidiuretischen Hormon ausüben. Um diese Aussage zu prüfen, haben wir den Einfluß verschiedener Nebennierenrindenhormone auf die pharmakologischen Effekte von Vasopressin untersucht.

Als Versuchstiere benutzten wir männliche Albinoratten mit einem Durchschnittsgewicht von 230 g. Die Tiere wurden in Einzelkäfige gesetzt, die ein getrenntes Auffangen von Stuhl und Urin ermöglichen. Durch eine am Oberkiefer befestigte Schlundsonde erhielten die Ratten eine orale Dauerinfusion von destilliertem Wasser. Die Infusionsgeschwindigkeit betrug 8 ml/Std. Als Halocortin benutzten wir d'l-Aldosteron, für dessen Überlassung wir Herrn Prof. Dr. Rolf Meier zu besonderem Dank verpflichtet sind. Es wurde in öliger Lösung intraperitoneal $4^1/_2$ Std vor der subcutanen Vasopressingabe injiziert.

Als Glucocortinoid verwandten wir Prednisolon. Es wurde zum gleichen Zeitpunkt wie das Aldosteron in einer Suspension von Gummi arabicum durch eine Schlundsonde verabfolgt. Im Verlauf von 3 Std wiesen die Tiere ausgeglichene Flüssigkeitsbilanzen auf, wenn die extrarenalen Flüssigkeitsverluste berücksichtigt wurden. Von der 4. Std an nach Beginn der Infusion wurde der Urin in stündlichen Portionen gesammelt, und zwar 1 Std vor und 3 Std nach der Vasopressingabe. Die Bestimmung von Natrium im Harn wurde mit einem Beckman-Spektrophotometer mit Multiplier und Flammenphotometerzusatz durchgeführt.

Wir erhielten folgende Ergebnisse:

Bei den Versuchen mit destilliertem Wasser erniedrigten 5 mE Vasopressin die Flüssigkeitsausscheidung und erhöhten die Natriumkonzentration. Nach Vorbehandlung mit 50 γ Aldosteron blieb der

antidiuretische Effekt von 5 mE Vasopressin unverändert. Die Natriumkonzentration wurde dagegen nicht erhöht. Die Natriumausscheidung war absolut gegenüber den Kontrollen und den Werten der Vorperiode erniedrigt. 100 γ Aldosteron verringerten den natriuretischen Effekt von 25 mE Vasopressin.

Diese Befunde sprechen für einen Antagonismus zwischen dem Aldosteron und dem Vasopressin, der sich jedoch offenbar ausschließlich auf den Stoffwechsel des Natriums bezieht. Die durch Vasopressin verursachte Wasserretention wird durch Aldosteron weder verstärkt noch abgeschwächt. Hiermit stimmt überein, daß Gross sogar mit Dosen von 1 mg Aldosteron die Wasserdiurese bei adrenalektomierten Hunden nicht normalisieren konnte. Unsere Untersuchungen stehen im Gegensatz zu der Mitteilung von Gaunt u. Mitarb. Sie fanden, daß Aldosteron bei adrenalektomierten Ratten bei oraler Zufuhr von destilliertem Wasser ungefähr genau so stark diuretisch wirkt wie Hydrocortison.

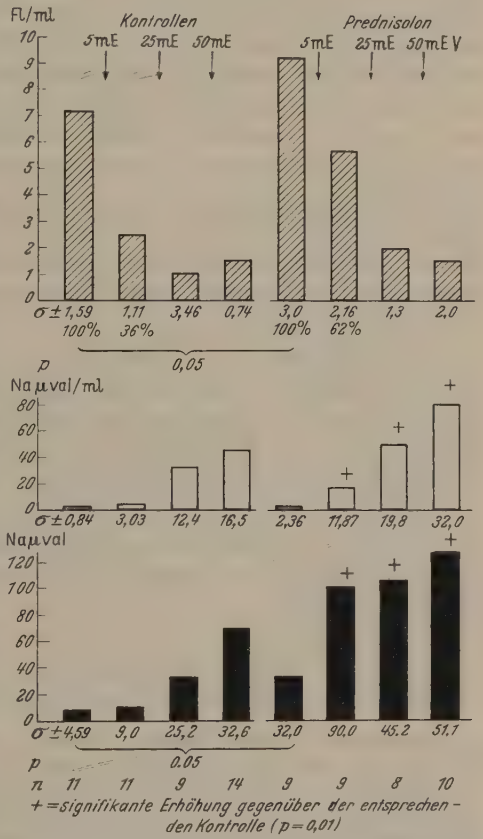


Abb. 1. Abschwächung der wasserretinierenden Wirkung von 5 mE Vasopressin durch 8 mg Prednisolon. Verstärkung des natriuretischen Effektes von 5, 25 und 50 mE Vasopressin durch 8 mg Prednisolon.

Von dem Glucocortinoid Prednisolon, das sich bei Experimenten an adrenalektomierten Tieren als äußerst wirksam erwiesen hat, wurde eine Dosis von 8 mg verwendet. Sie gleicht die nach Epinephrektomie gestörte Flüssigkeitsbilanz bei Zufuhr von 48 ml isotonischer Salzlösung in 24 Std völlig aus.

Bei den Experimenten konnten wir zunächst feststellen, daß Prednisolon die Wasser- und Natriumausscheidung in der Stunde vor der Vasopressininjektion im Vergleich zu den Kontrollen signifikant erhöht. Die Flüssigkeitsbilanz war negativ. 8 mg der Δ 1-Verbindung schwächten

die antidiuretische Wirkung von 5 mE Vasopressin deutlich ab. Diese Vasopressindosis erniedrigte die Flüssigkeitsausscheidung bei den Kontrollen auf 36%, nach Vorbehandlung mit Prednisolon dagegen nur auf 62% der Ausscheidung in den Vorperioden. Bei Erhöhung der Vasopressinmenge auf 25 und 50 mE verringert die gleiche Prednisolondosis die Flüssigkeitsretention nicht (Abb. 1). Die Analyse der Natriumionen im Urin der Ratten ergab, daß Prednisolon die natriuretische Wirkung von Vasopressin deutlich verstärkt. Sowohl die Natriumkonzentration wie auch die -ausscheidung waren absolut erhöht. Die antagonistische Wirkung von Prednisolon und Vasopressin bei der Wasserausscheidung kann erklären, warum Glucocortinoide die gestörte Flüssigkeitsausscheidung von adrenalektomierten Tieren normalisieren. Bei der Regulation des Natriumstoffwechsels besteht zwischen Prednisolon und Vasopressin unter diesen Bedingungen offenbar ein Synergismus. Die Versuchsergebnisse demonstrieren:

Die ursprüngliche Theorie, daß alle Nebennierenrindenhormone qualitativ gleiche antagonistische Wirkungen, unabhängig von ihrem Effekt auf den Mineralstoffwechsel, gegenüber dem Vasopressin ausüben, trifft nicht zu. In dem funktionellen System Neurohypophyse-Nebennierenrinde bestehen offenbar qualitativ verschiedene Mechanismen. Der Antagonismus zwischen den Halocortinen und dem antidiuretischen Hormon dient der Regulation des Natriumstoffwechsels, der Antagonismus zwischen den Glucocortinen und dem Vasopressin der Steuerung des Wasserhaushaltes.

Literatur

Corey, E. L., and S. W. Britton: Amer. J. Physiol. **133**, 511 (1941). — Gaunt, R., A. A. Renzi and J. J. Chart: Amer. J. Physiol. **176**, 621 (1954).

Diskussion. G. Peters (Mainz): Nach 5- und 10-tägiger Vorbehandlung von Ratten mit Cortison (25 mg/kg/Tg s.c.) oder DOCA (20 mg/kg/Tg s.c.) fand sich keine statistisch signifikante Veränderung der Dosis-Wirkungskurven der Vasopressinwirkung auf die Wasserdiurese oder die Na^+- und die Cl^--Ausscheidung. Die Größe der Wasserdiurese und der Salzausscheidung der Kontrolltiere war gegenüber nicht vorbehandelten Tieren gesteigert. Ein Antagonismus zwischen Vasopressin einerseits und DOCA oder Cortison andererseits ließ sich unter unseren Versuchsbedingungen nicht nachweisen.

R. Kuschinsky (Mainz): Es ist möglich, daß die Differenzen der Ergebnisse im Berliner und Mainzer Institut nicht nur auf verschiedenen Substanzen, sondern vor allem auf der verschiedenen Methodik beruhen.

G. Senft (Berlin-Dahlem): Die im April 1956 von Gaunt in Bristol vorgetragenen Befunde könnten erklären, warum mit Dosen von 25 mg/kg Desoxycorticosteron keine Natriumretention erzeugt werden kann. Er konnte feststellen, daß Desoxycorticosteron nur in niedrigen Dosen den natriuretischen Effekt von Vasopressin aufhebt, in höheren Dosen konnte dieser Effekt nicht nachgewiesen werden. Mit Aldosteron konnte dagegen bei allen verwendeten Dosen die durch Vasopressin bedingte Natriumkonzentrationserhöhung abgeschwächt werden.

H. Herken (Berlin-Dahlem): Der Antagonismus zwischen der Neurohypophyse bzw. dem im Zwischenhirn gebildeten Vasopressin und der Nebennierenrinde bei der Steuerung des Natriumstoffwechsels ist auch von anderen Untersuchern bestätigt worden. Die abweichenden Beobachtungen von Herrn Peters können nur auf den Unterschieden in der Methodik beruhen. Auf die Frage von Herrn Janssen möchte ich antworten, daß der Eingriff der Hypophysektomie zur Klärung der aufgeworfenen Frage unzureichend ist, da das Vasopressin im Hypothalamus synthetisiert wird. Von anderen Autoren wurde schon darauf hingewiesen, daß der Gehalt an antidiuretischen Hormonen im Serum verhältnismäßig kurze Zeit nach der Hypophysektomie oder Neurohypophysektomie wieder ansteigt.

H. Brunner (Mainz): Die Oxytocinwirkung auf die Nierenfunktion nach Parenchymresektionen

Ratten wurden in zweizeitiger Operation 5/6 des Nierenparenchyms entfernt und von diesem Zeitpunkt ab die Hälfte der Tiere mit Oxytocin behandelt, während die übrigen als Kontrollen dienten. In den ersten auf die Operation folgenden Tagen stiegen die Diurese und spontane Trinkmenge der unbehandelten Ratten auf ein Mehrfaches des präoperativen Wertes an und blieben bis zum 90. Tag unverändert. Im Durstversuch zeigte sich nur eine geringe Einschränkung der Diurese. Das Glomerulusfiltrat (Clearance des echten endogenen Kreatinins) fiel nach der 5/6-Resektion des Nierengewebes nur auf die Hälfte des Werts intakter Tiere, so daß die Filtratmenge pro Glomerulus erheblich zugenommen haben muß. Die Oxytocinbehandlung führte zu einer weiteren Steigerung der Diurese bei gleichzeitig stärkerer Senkung des Glomerulusfiltrats. Bei behandelten wie unbehandelten Tieren kam es nach der Resektion in gleichem Maß zu einer Steigerung der Na^+-, K^+- und Cl^--Ausscheidung mit Steigerung der Na^+- und Cl^--Clearance, wogegen die K^+-Clearance bei erhöhtem K^+-Plasmaspiegel unverändert blieb. Die Kreatininausscheidung war nur anfangs mit Abfall der Clearance und Erhöhung des Plasmaspiegels gesenkt, normalisierte sich aber später. Die Säureausscheidungsfähigkeit nach Belastung mit saurem Phosphat war deutlich eingeschränkt, nicht dagegen die Ammoniakausscheidung. Auf diese letzteren Erscheinungen war Oxytocin ohne Wirkung.

Diskussion. H. Herken (Berlin-Dahlem): Wie verhält sich der Natriumstoffwechsel bei den partiell nephrektomierten Tieren? Zur Prüfung der Leistungsfähigkeit des Tubulusepithels wäre es von Interesse, die Tiere einer Belastung durch Dauerinfusion physiologischer Salzlösung auszusetzen, um das Ausmaß der Natriumrückresorption zu studieren.

Schlußwort H. Brunner (Mainz): Bei einer akuten Belastung per os mit 12 ml physiologischer Natriumchloridlösung scheiden Ratten mit Nierenparenchymresektionen innerhalb von 2 Std nach der Gabe weniger Na^+ aus als intakte Tiere. Diese Senkung ist in wenigen Tagen reversibel.

L. Schmidt (Freiburg/Br.): Pharmakologische Wirkungen einiger Lösungsmittel und Lösungsvermittler

Um wasserunlösliche Arzneimittel in Lösung zu bringen, werden in zunehmendem Maße Lösungsmittel und Lösungsvermittler verwendet, deren Wirkungen zum Teil wenig bekannt sind. Wir untersuchten einige dieser Substanzen mit dem Ziel:

1. deren pharmakologische Eigenwirkungen kennen zu lernen,

2. ihren wirkungssteigernden bzw. wirkungsmindernden Einfluß auf die eigentliche Droge zu prüfen und

3. einen pharmakologisch neutralen Stoff zu finden.

Folgende Lösungsmittel und Lösungsvermittler wurden untersucht:

1,2-Propandiol, Polyglykol 200, Polyglykol 400, Colamin, Cetylpyridiniumchlorid, Cremophor El und Natriumsalicylat.

Außerdem wurde in dieser Arbeit die coronarerweiternde Wirkung des Theophyllins und der zur Lösung des Theophyllins häufig verwendeten Amine: Äthylendiamin, Monoäthanolamin und Diäthanolamin mit untersucht (siehe Vortrag von Heimburg).

Die aufgeführten Substanzen wurden an einigen pharmakologischen Standardpräparaten getestet: Froschherz nach Bülbring, isolierter Darm nach Magnus (Ratte, Meerschweinchen, Kaninchen, Katze); Darm in situ nach Straub, Uterus in situ nach Schmidt-Engelhorn (Ratte), Blutdruck (Katze, Hund) und Coronardurchblutung (Hund).

Da es im Rahmen dieses Vortrages unmöglich ist, die Ergebnisse aller Versuche mitzuteilen, sei vorweggenommen, daß keine der geprüften Substanzen pharmakologisch neutral war.

Die oft beträchtlichen Effekte solcher Lösungsmittel und Lösungsvermittler sollen am Beispiel des Natriumsalicylats gezeigt werden. Natrium salicylicum wird als Lösungsvermittler für Khellin (Visamin) verwendet. Um 20 mg Khellin in Lösung zu halten, werden 300 mg Natriumsalicylat benötigt. Da vielfach auf die Coronarwirkung des Khellins hingewiesen wird, untersuchten wir seine coronarerweiternde Wirkung im Vergleich zur entsprechenden Menge Natriumsalicylat. Vergleichssubstanzen waren Papaverin und das neuerdings erhältliche wasserlösliche Khellin.

Versuchstiere waren Hunde: Gewicht 13,5—26 kg; Narkose Chloralose oder Numal (Wz); künstliche Atmung mit Sauerstoff; Messung der Coronardurchblutung im Ramus desc. oder Ramus circumflexus der A. coronaria sin. mit einem automatisch registrierendem Bubble-flow-meter.

Versuchsergebnisse

1. Die coronarerweiternde Wirkung des mit Natriumsalicylat gelösten Khellins ist um etwa $^1/_3$ geringer als die des Papaverins.

2. Injiziert man die entsprechende Menge des Natriumsalicylats allein, so erhält man eine ebenso starke Coronarerweiterung wie durch Khellin mit Natriumsalicylat.

3. Das wasserlösliche Khellin bewirkt praktisch keine Kranzgefäßerweiterung.

Die Wirkung eines Lösungsvermittlers kann, wie dieses Beispiel zeigt, so stark sein, daß der eigentliche Effekt einer Droge vollkommen überdeckt wird.

Diskussion. H. Oettel (Ludwigshafen): Es ist erfreulich, daß auf die Bedeutung der Lösungsmittel und Lösungsvermittler bei pharmakologischen Untersuchungen hingewiesen wird. Auch bei Berichten aus anerkannten Instituten wird das leider nicht immer genügend berücksichtigt. Viel zu wenig bekannt ist, daß Tween 80 bei Hunden eine allergische Blutdrucksenkung bewirkt. Wenn aber Herr Schmidt sagt, „alle Lösungsmittel und Lösungsvermittler haben starke pharmakologische Eigenwirkung", so ist diese Verallgemeinerung nicht zutreffend. Nach unseren Versuchen sind z. B. Polyglykole sehr indifferent. Von meinem Mitarbeiter Schütz wurde berichtet, daß sie sogar entgiftend wirken können, weil sie die Resorption von Wirkstoffen von der Haut und der Schleimhaut hemmen. Allerdings sind nicht alle Polyglykole so untoxisch. Es gibt höchst toxische Polyglykolfraktionen, wahrscheinlich bedingt durch bestimmte Verunreinigungen aus der Herstellung, weswegen die biologische Prüfung der als Lösungsmittel benutzten Polyglykole unerläßlich ist.

H.. Haas (Ludwigshafen): Die Verwendung von Antipyrin als Lösungsvermittler garantiert einen guten broncholytischen Effekt.

H. J. Schümann (Frankfurt a. M.): In der gezeigten Abbildung ist, soweit ich sehe, die Coronar-gefäßerweiternde Wirkung der Kombination Khellin + Natriumsalicylat deutlich stärker als diejenige des Natriumsalicylats allein. Demnach scheint dem Khellin doch eine Eigenwirkung zuzukommen.

Schlußwort L. Schmidt (Freiburg/Br.) zu Oettel: 1. Die toxischen Wirkungen interessierten nicht, da kaum jemals in irgendwelchen Präparaten die toxische Dosis auch nur annähernd erreicht wird. 2. Haben zwar alle genannten Mittel pharmakologische Eigenwirkungen, aber je nach Präparat und nach Dosis verschieden. Die pharmakologisch wirksamen Grenzdosen sind in einer Tabelle zusammengefaßt zur Zeit in Druck. Die Polyglykole 200 und 400 sind tatsächlich relativ neutral.

A. v. Heimburg und L. Schmidt (Freiburg/Br.): Die coronarerweiternde Wirkung einiger Theophyllin-Präparate und ihrer Lösungsvermittler

Um Theophyllin in handelsüblichen Präparaten in Lösung zu bringen, werden verschiedene Lösungsvermittler verwendet. Es war das Anliegen dieser Untersuchung, zu prüfen, inwieweit diese Lösungsvermittler die bekannte coronarerweiternde Wirkung des Theophyllins verstärkend oder vermindernd beeinflussen.

Untersucht wurden Theophyllin-Monoäthanolamin, Theophyllin-Diäthanolamin und Theophyllin-Äthylendiamin. Gesondert geprüft wurden die Lösungsvermittler.

Versuchstiere waren Hunde von 15—25 kg Gewicht. Narkose: Numal. Die Coronardurchblutung wurde im Ramus circumflexus der A. coronaria sinistra mit Hilfe eines automatisch registrierenden Bubble-flow-meters gemessen. Die Drogen wurden in Dosen entsprechend 5 mg/Tier Theophyllin intracoronar, d. h. in den Schlauch direkt bei seiner Einmündung in die Coronararterie injiziert. Die Dosierung der Lösungsvermittler ergab sich aus ihrem Verhältnis zum Theophyllin. Als Vergleichssubstanz diente wasserlösliches Theophyllin-Natrium.

Alle Lösungsvermittler zeigten eine Wirkung auf die Coronarien im Sinne einer Erweiterung. Bemerkenswert ist der quantitative Unterschied hinsichtlich der Stärke der Erweiterung. Monoäthanolamin und Diäthanolamin bewirkten stets eine sehr ausgeprägte Erhöhung des Coronardurchflusses, dagegen ist der Einfluß von Äthylendiamin nur sehr geringfügig. Verglichen mit der Coronarwirkung der handelsüblichen Theophyllin-Präparate ist der erweiternde Einfluß der Lösungsvermittler aber nur mäßig, und dürfte praktisch zu vernachlässigen sein.

In unseren Versuchen gewannen wir den Eindruck, daß sich die Wirkung von Monoäthanolamin und Diäthanolamin dem coronarerweiternden Einfluß des Theophyllins hinzuaddiert, daß aber auch das Theophyllin-Äthylendiamin eine gleichartige Durchblutungsverbesserung gegenüber dem Theophyllin-Natrium hervorruft, obwohl das Äthylendiamin allein keine registrierbare Beeinflussung der Coronardurchströmung aufweist.

Es ergibt sich aus diesen Untersuchungen, daß der Einfluß der Lösungsvermittler in den handelsüblichen Theophyllin-Präparaten sehr gering ist, im Gegensatz zu der im Vortrag von Schmidt angegebenen Wirkung des Lösungsvermittlers Natrium salicylicum auf das Khellin.

Diskussion. N. Brock (Brackwede): Frage nach der Wirkung der Theophyllinpräparate bei i.v. Applikation fern vom Wirkungsort und am spastisch veränderten Coronarsystem.

L. Schmidt (Freiburg/Br.): Zur Anfrage von Herrn Brock: Da Vasopressin praktisch die einzige Substanz ist, die Coronarspasmen herbeiführt, andererseits aber ein genau diffinierbarer Coronarspasmus mit Vasopressin wegen der bekannten Tachyphylaxie nicht erzeugt werden kann, mußte die Wirkung der von Herrn v. Heimburg erwähnten Stoffe an normalen Coronarien getestet werden.

Schlußwort A. v. Heimburg (Freiburg/Br.): Die Coronardurchblutung wird durch intravenöse Injektion in gleicher Weise beeinflußt, nur in sehr viel weniger ausgeprägter Art.

Es wurden in den Untersuchungen keine Spasmen durch Drogen hervorgerufen.

G. Kühn (Berlin): Die Wirkung des N-p-Chlorphenyl-2,4-diamino-s-triazins auf die Kochsalzausscheidung der Ratte

Mit 2 Textabbildungen

Die Kenntnis der diuretischen Wirkung von Triazinderivaten geht auf Lipschitz zurück. Ungarische Autoren fanden als diuretisch wirksamstes Triazin das N-p-Chlorphenyl-2,4-diamino-s-triazin (Orpidan,

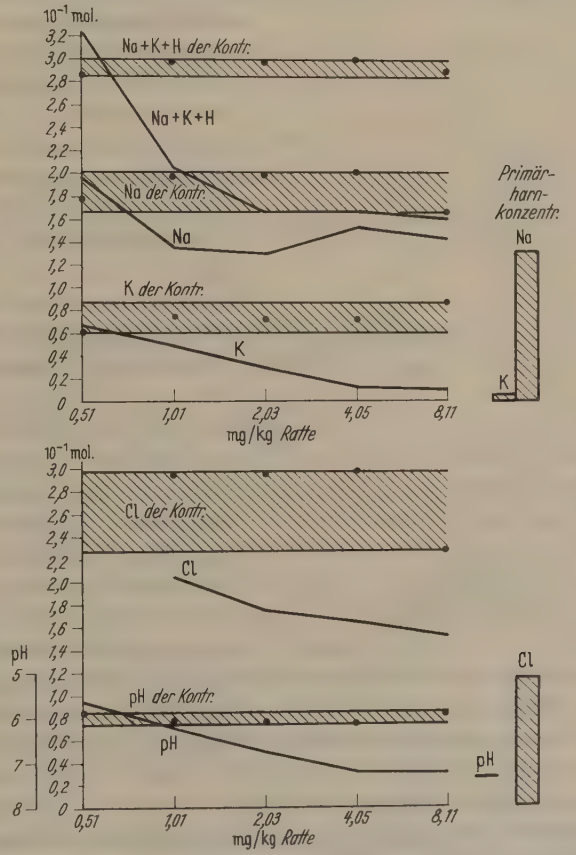


Abb. 1. Dosisabhängigkeit der Diuresesteigerung und der Elektrolytausscheidung nach Gabe des Triazins

Neo-Urofort). Wir verglichen die diuretische Wirkung der Substanz an Ratten mit der Wirkung einiger anderer Substanzen, worüber wir bereits berichteten.

Unter Standardbedingungen gehaltene, männliche Albinoratten erhielten bei gleichzeitigem Nahrungs- und Wasserentzug 16 Std vor und bei Versuchsbeginn je 5 ml 0,9% NaCl-Lösung pro 100 g Körpergewicht oral verabreicht. Die

Veruchsdauer betrug 8 Std. Pro Versuch wurden 6 Tiere unter Mitführung gleichgroßer Kontrollgruppen verwendet. Im 2-Std-Sammelharn jeder Gruppe führten wir folgende Bestimmungen durch: Messung der Kalium-, Natrium- und Chloridkonzentration, Titration der Acidität bis zum p_H von 7,4. Messung des p_H-Wertes. Zu Vergleichszwecken führten wir dieselben Bestimmungen nach Gabe eines hochwirksamen Carboanhydrasehemmers (2-Benzolsulfonamido-1,3,4-thiodiazol-5-sulfonamid) durch.

Der Effekt des Triazins auf die Nierenausscheidung ist von langer Dauer. 4 mg/kg Ratte sind nach 48 Std noch wirksam. Da sich die Ausscheidungsdifferenzen zwischen Versuchs- und Kontrolltieren innerhalb von 8 Versuchsstunden nicht wesentlich änderten, wurden alle Einzelbestimmungen für die Dosiswirkungskurven verwendet. Abb. 1 zeigt zunächst die ausgeschiedenen Mengen an Harn, Na, K und Cl. Jedem Kurvenpunkt liegen durchschnittlich 28 Einzelbestimmungen zugrunde. Die Ausscheidung von Natrium erreicht den höchsten Wert bei der Dosis von 4,05 mg des Triazins pro Kilogramm Ratte mit 295% gegenüber den Kontrollen. Die Chloridausscheidung erreicht dagegen schon ein Maximum bei 2,03 mg Triazin pro Kilogramm Ratte mit 251%, während die Kaliumausscheidung bei der gleichen Dosis 155% beträgt und bei 4,05 mg/kg absinkt auf 66%, also kleiner wird als die der Kontrolltiere. Die Gesetzmäßigkeiten der Beeinflussung der Elektrolytausscheidung werden deutlicher bei Betrachtung der Harnkonzentrationswerte (Abb. 2). Bei der kleinsten diuretisch wirksamen Dosis von 1,01 mg/kg sinken die Konzentrationen bereits unter die der Kontrolltiere ab. Die Natriumkonzentration zeigt bei 4,05 mg/kg einen leichten Wiederanstieg, während die Chlorid- und Kaliumkonzentration kontinuierlich absinken, wobei die Kaliumkonzentration extrem niedrige Werte erreicht. Die Kurve aus der Summe der Na- und K-Konzentration und der titrierten Acidität zeigt einen der Cl-Konzentration annähernd parallelen Verlauf. Der p_H-Wert steigt laufend an. Offenbar streben die Konzentrationen denen des Primärharnes zu, die rechts in die Abb. 2 eingezeichnet sind (Werte nach Frey). Diesen Werten strebte die Harnkonzentration auch zu, wenn

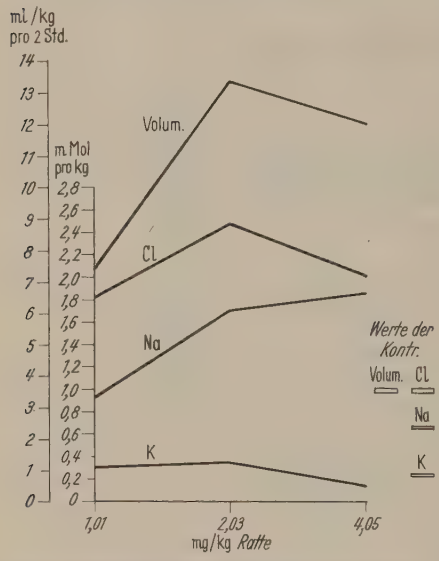


Abb. 2. Dosisabhängigkeit der Harnkonzentration nach Gabe des Triazins

die Tiere mit einer isotonen Lösung belastet wurden, die 50% NaCl und 50% KCl enthielt und bei Wasserbelastung, wobei es zur Verminderung des Harnvolumens kam.

Daß die Wirkung nicht über die Hemmung der Carboanhydrase zustande kommt, beweist der Vergleich mit den Harnkonzentrationswerten nach Gabe des eingangs erwähnten Carboanhydrasehemmers. Hier sind die Na- und K-Konzentrationen gegenüber den Kontrolltieren praktisch unverändert. Die Chloridkonzentration ist vermindert zugunsten der Carbonatausscheidung.

Zur Klärung des Wirkungsmechanismus des Triazins sind weitere Untersuchungen notwendig.

Literatur

Frey, E., u. J. Frey: Die Funktionen der gesunden und kranken Niere. Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer 1950. — Kühn, G.: Klin. Wschr. **1957**, 346. — Lipschitz, W. L., and Z. Hadidian: J. of Pharmacol. **81**, 84 (1944).

H. Coper (Berlin-Dahlem): Die freien Nukleotide des Gehirns nach Funktionsänderung durch Hexachlorcyclohexan

Vor und nach Behandlung mit den krampfhemmend wirkenden Isomeren β und γ des Hexachlorcyclohexans wurden die freien Nukleotide des Gehirns papierchromatographisch getrennt, wobei sich 4 Fraktionen voneinander abgrenzen. Die 3 Hauptbanden bestehen ganz überwiegend aus AMP, ADP und ATP, deren Gehalt sich durch Einwirkung der Hexachlorcyclohexane nicht wesentlich ändert. Starke Abweichungen von der Norm zeigt dagegen die 4. Fraktion, deren R_f-Wert kleiner ist als der des ATP. Ihre Verbindungen enthalten als Basen Adenin, Guanin und Uracil. Im Zeitpunkt der maximalen krampfhemmenden Wirkung verursachen beide Isomere eine deutliche Zunahme von Adenin und Uracil. Das β-Isomere ruft außerdem eine Vermehrung des Guanin hervor.

Durch Vergleich mit bekannten Testsubstanzen konnte die Zahl der Verbindungen, die der 4. Fraktion zugeordnet werden können, weitgehend eingeengt werden. Bei den uracilhaltigen Derivaten handelt es sich um UTP und einen Teil der Uridindiphosphathexoseverbindungen. Weiterhin enthält die Fraktion Guanosin-di- und -triphosphat. Für den Adeninanteil kommen Flavin-adeninnukleotide, Triphosphopyridinnukleotid, Coenzym A und Adenosintetraphosphat in Betracht. Bisher konnte lediglich TPN durch mikrobiologischen Nachweis der Nicotinsäure identifiziert werden. Doch beträgt die so gefundene Menge nur etwa 10% des Adeninanteils.

Beziehungen zwischen den gefundenen Änderungen im Nucleotidgehalt des Gehirns und den antikonvulsiven Wirkungen der Hexachlorcyclohexane lassen sich noch nicht mit Sicherheit nachweisen. Es kann aber festgestellt werden, daß die Substanzen, die bei einem Krampfanfall vermindert sind wie ADP und ATP, durch Hexachlorcyclohexan wenig beeinflußt werden. Dagegen wird im Zeitpunkt des stärksten krampfhindernden Effektes die Konzentration gerade der noch nicht identifizierten Adeninnucleotide deutlich erhöht. Diese werden im Krampf nicht beeinflußt oder ebenfalls vermehrt angetroffen. Es ist nicht ausgeschlossen, daß die gefundenen Abweichungen im Nucleotidstoffwechsel mit erregungshemmenden Vorgängen im Zentralnervensystem in Zusammenhang stehen.

W. Koransky (Berlin-Dahlem): Isolierung und Identifizierung eines Adeninnucleotids mit neurotropen Wirkungen

Herken u. Mitarb. haben gezeigt, daß die α, β und γ-Isomeren des Hexachlorcyclohexans (HCH) bei der Ratte eine langanhaltende Resistenz gegenüber verschiedenen krampferzeugenden Substanzen bewirken. Eine einmalige Dosis von 80 mg/kg γ-HCH schützt z. B. fast 90% der Tiere vor dem Auslösen eines Krampfanfalls durch subcutane Applikation von 80 mg/kg Cardiazol. Diese Hemmung hat ihr Maximum am 4. Tage nach der HCH-Gabe, nimmt dann langsam ab und verschwindet erst nach etwa 30 Tagen. Gibt man unmittelbar nach Ablauf dieser Frist den Tieren 2 mg/kg Adenosintriphosphat i.v., so werden sie innerhalb von 24 Std erneut krampfresistent gegenüber der sicher krampferzeugenden Cardiazoldosis. Diese Reproduktion der Krampfresistenz bleibt etwa 2—4 Tage bestehen. Die alleinige Verabreichung von ATP an Tiere ohne Vorbehandlung mit HCH führt nicht zu diesem Effekt.

Bei weiterer Untersuchung dieser Befunde zeigte sich die überraschende Tatsache, daß die Wirkung nur von einem bestimmten ATP-Präparat ausgelöst wurde. Andere, ebenfalls im Handel erhältliche Präparate waren wirkungslos. Hieraus ergab sich die Vermutung, daß nicht das ATP selbst, sondern eine im wirksamen ATP-Präparat enthaltene Beimengung für die Auslösung des Effektes verantwortlich sei.

Zur Klärung dieser Frage wurden 2 handelsübliche ATP-Präparate, ein wirksames (Präparat S) sowie ein im genannten Test unwirksames (Präparat B) mit Hilfe der Ionen-Austausch-Chromatographie analysiert. Die Auftrennung erfolgte über den stark basischen Anionen-Austauscher Dowex 1 in der Formiatform nach der von Hurlbert, Schmitz, Brumm u. Potter angegebenen Methode der Gradientenelution. Diese Untersuchung ergab, daß beide Präparate neben ATP eine erhebliche

Menge von 2 weiteren Substanzen enthalten, die sich bei der Analyse als ADP und AMP erwiesen. Außerdem zeigte sich im Präparat S die Bande eines Nucleotids, das im Präparat B nur in Spuren vorhanden ist.

Um sicher zu sein, daß die abgetrennten Substanzen einheitlich sind und keine weiteren Beimengungen enthalten, wurden sie nach Gefriertrocknung und Absublimieren der Elutionsmittel im Hochvakuum jede für sich einer erneuten Austausch-Chromatographie unterzogen. Hierbei wurde ein verändertes Elutionssystem gegenüber der ersten Chromatographie benutzt. Es ergab sich, daß die Substanzen aller 4 Banden weitgehend einheitlich sind.

Die weitere Charakterisierung erfolgte durch Aufnahme der UV-Spektren bei verschiedenem p_H, durch Ribose- und Phosphatbestimmung sowie durch Papierchromatographie und Aufnahme von UV-Spektren der hydrolytisch abgetrennten Basen. Die UV-Spektren aller Substanzen der 4 Banden stimmen mit dem Adenosin-Spektrum bei saurem und alkalischem p_H überein. Die durch saure Hydrolyse abgetrennten Basen haben im zweidimensionalen Papierchromatogramm die gleichen R_f-Werte wie Adenin und nach Elution aus dem Papier ein dem Adenin identisches Spektrum. Die Tabelle zeigt die Ergebnisse der Ribose- und Phosphatbestimmungen von den chromatographisch getrennten 4 Bestandteilen des wirksamen ATP-Präparates S.

Tabelle 1. *Verhältnis von Base : Ribose : Phosphat*

Bande	Base	Ribose	Phosphat gesamt	Phosphat labil
1	0,98	1,00	0,98	—
2	1,17	1,00	1,83	—
3	1,08	1,00	3,00	2,07
4	1,15	1,00	4,04	3,15

Aus diesen Daten ist zu entnehmen, daß es sich bei der 4. Substanz aus dem wirksamen ATP-Präparat um Adenosintetraphosphat (ATTP) handelt.

Es blieb nachzuweisen, daß die Wiederherstellung der Krampfhemmung durch die wirksamen ATP-Präparate auf die Beimengung von ATTP zurückzuführen ist. Da sein Anteil an der Gesamtmenge der Nucleotide etwa 5% beträgt, müßten 100 γ/kg im beschriebenen Test ein dem ATP-Präparat S äquivalentes Ergebnis zeigen. Die von COPER durchgeführten Versuche ergaben, daß 100 γ ATTP/kg Ratte im Cardiazol-Test tatsächlich wirkungsgleich mit 2 mg/kg des ATP-Präparates S sind. Außerdem verleiht ein Zusatz der genannten ATTP-Dosis zum unwirksamen ATP-Präparat B diesem die volle krampfhemmende Wirksamkeit.

ATTP ist bereits seit etwa 3 Jahren bekannt. Es wurde von MARRIAN in handelsüblichen ATP-Präparaten entdeckt und von LIEBERMAN

später im quergestreiften Pferdemuskel gefunden. Sacks u. Mitarb. haben aus der Leber und dem Skeletmuskel von Ratten ebenfalls Nucleotide extrahiert, die höher als ATP phosphoryliert waren, während Marrian die Substanz vergeblich in Darmextrakten gesucht hat. Eigene Bemühungen, den Stoff im Rattengehirn nachzuweisen, verliefen negativ.

Es sind bis jetzt keine Befunde bekanntgeworden, die etwas über die biologische Bedeutung oder eine Funktion des ATTP im Stoffwechsel des Warmblüters aussagen. Weder die Glucose-Phosphorylierung mit Hexokinase noch die AMP-Phosphorylierung mit Adenylatkinase gelangen mit ATTP als Phosphatdonator. Ebensowenig konnte mit einer Pyrophosphatkinase eine Pyrophosphatgruppe vom ATTP ausgetauscht werden.

Die eigenen Ergebnisse lassen bis jetzt gleichfalls keine direkte Wirkung der Substanz auf bestimmte Stoffwechselvorgänge erkennen. Die vor dem Einsetzen des Effektes im Cardiazoltest verstreichende Latenzzeit macht vielmehr wahrscheinlich, daß ATTP die Wiederherstellung der Krampfresistenz indirekt über den Eingriff in bestimmte Fermentsysteme, möglicherweise durch spezifische Phosphatübertragung bewirkt.

Literatur

Hurlbert, R. B., H. Schmitz, A. F. Brumm and V. R. Potter: J. Biol. Chem. **209**, 23 (1954). — Liebermann, I.: J. Amer. Chem. Soc. **77**, 3373 (1955). — Marrian, D. H.: Biochim. et Biophysica. Acta **13**, 278 (1954). — Sacks, J., L. Lutwak and P. D. Hurley: J. Amer. Chem. Soc. **76**, 424 (1054).

H. Remmer (Berlin-Dahlem): Der Einfluß von Steroidhormonen auf den Abbau von Evipan bei der Ratte

Seit der Jahrhundertwende ist die Tatsache bekannt, daß nebennierenlose Tiere gegen Wirkungen zahlreicher Pharmaka empfindlicher sind als normale. Brown-Sequard glaubte noch, daß in der Nebenniere giftig wirkende körpereigene und -fremde Substanzen unschädlich gemacht werden.

Mit den heutigen Vorstellungen über die Funktionen der Nebennierenrinde vereinbar wäre dagegen die Annahme, daß Steroide aus der Rinde die Entgiftung in den Zellen vornehmlich der Leber verstärken.

Zur Klärung dieses Problemes versprachen Experimente an der Ratte Aussicht auf Erfolg. Sie ist die einzige Tierart, von der bisher bekannt ist, daß männliche Tiere gegen Giftwirkungen resistenter sind als weibliche. Vom Alter und Geschlecht der Ratte ist z. B. die Dauer der Narkose durch kürzer wirkende Barbitursäurederivate abhängig. Näher untersucht

wurde dieses Verhalten bereits 1937 von Holck, der nachwies, daß die Entgiftung solcher Barbiturate durch das männliche Keimdrüsenhormon nur bei der Ratte, nicht aber bei anderen Tierarten fördernd beeinflußt wird.

Eigene in-vitro-Versuche konnten Holck bestätigen. Leberschnitte männlicher Ratten oxydierten Evipan doppelt so schnell wie solche weiblicher Tiere. Brodie u. Mitarb. wiesen bereits darauf hin, daß die Fermentaktivität in den *Lebermikrosomen* männlicher Ratten höher ist.

Um den Evipanabbau durch Lebermikrosomen der weiblichen Ratte zu beschleunigen, mußten sie 6 Wochen lang täglich Testosteron injizieren. Auch Buchel applizierte täglich 2 mg/kg Testosteron über 14 Tage, um bei weiblichen Ratten die Dauer der Evipannarkose zu verkürzen.

Ausgehend von der eingangs erwähnten Arbeitshypothese, daß gewisse Steroide der Nebennierenrinde auf die Entgiftung einen fördernden Einfluß ausüben, erhielten weibliche Ratten Cortison oder Prednisolon. 3 Tage Vorbehandlung mit nur 1 mg Cortison/kg genügten, um die Dauer der Evipannarkose auf die Hälfte zu verringern. Wie die in-vitro-Versuche bewiesen, wurde der Abbau von Evipan bereits durch 1 mg/kg Prednisolon signifikant um 56% gesteigert. Offensichtlich sind die N.N.R.-Hormone bei der weiblichen Ratte viel wirksamer als Testosteron.

Diese Ergebnisse waren der Anlaß, die Entgiftung auch bei adrenalektomierten Ratten zu prüfen. Um die störenden Einflüsse, die durch Nebennierenverlust eintreten, weitgehend auszuschalten, wurde der Abbau von Evipan durch Leberschnitte getestet.

7 Tage nach Adrenalektomie männlicher Ratten wurde die Fähigkeit der Leber, in vitro Evipan abzubauen, geprüft. Die Oxydation war schlechter als durch Leberschnitte von Kontrollratten. Adrenalektomierte Ratten, die Cortison oder Prednisolon zur Substitution erhielten, bauten Evipan sogar noch schneller ab als die normalen männlichen Ratten.

Die fördernde Wirkung der Steroidhormone erstreckt sich nicht nur auf den Abbau von Evipan, der vornehmlich durch Oxydation erfolgt, sondern auch auf die Demethylierung von Dolantin, wie die ersten Versuche zusammen mit B. Alsleben zeigten.

Diskussion. H. Dengler (Heidelberg). Wir verfügen über eine klinische Beobachtung einer vielleicht hierher gehörigen geschlechtsdifferenten Arzneimittelunverträglichkeit. Nach Verabreichung des Tuberkulostaticums 2,4-Diaminoazobenzolmonorhodanid sahen wir in einigen Fällen erhebliche Anämien, bevorzugt bei Frauen. Für den Abbau der erwähnten Substanz dürften aber gerade die hier zur Rede stehenden Brodie-Enzymsysteme eine Rolle spielen.

F. Scheler, G. Jacobi und W. Koll (Göttingen): Untersuchung zur Frage der Differenzierung von sogenannten Hirnstamm- und Hirnrindennarkotica an labyrinthektomierten Katzen

Pick (1927) hat eine Einteilung hypnotisch wirkender Pharmaka nach ihrem „ersten und vorzüglichsten Angriffspunkt" vorgeschlagen in Rinden- und Stammittel. Eine große Zahl experimenteller Untersuchungen hat sich seitdem kritisch mit dieser Einteilung auseinandergesetzt, ohne eindeutige Beweise für die Berechtigung der Pickschen Konzeption zu erbringen. Da bisher fast ausschließlich Funktionen des Hirnstammes untersucht wurden, schien es interessant die Wirkung der beiden Narkoticagruppen an einer Rindenfunktion zu prüfen. Als geeignete Rindenfunktion verwendeten wir die durch sogenannte „optische Stellreflexe" ausgelöste Fallumdrehreaktion an labyrinthlosen Katzen. Aus der Gruppe der sogenannten Hirnrindennarkotica wurde untersucht Paraldehyd und Chloralhydrat, aus der Gruppe der sogenannten Hirnstammittel Prominal und Luminal. Ein Wirksamkeitsvergleich von Narkotica, bei welchen unter besonderen Versuchsbedingungen prädilektive Wirkungen erkennbar werden sollen, hat nicht nur die Anwendung niedriger Dosen zur Voraussetzung, sondern auch solche, welche an normalen Tieren äquieffektiv sind.

Mit Hilfe der von Magnus und seiner Schule ausgearbeiteten Methodik zur Bestimmung von Narkosetiefen wurden deshalb an normalen Katzen die äquieffektiven Dosen der sogenannten Rinden- und Stammmittel bestimmt, und zwar für mittlere bis leichte Narkosestadien. Es ergab sich bei der Prüfung von 3 verschiedenen Dosierungsstufen eine konstante Wirkungsrelation. Sie beträgt für Prominal/Paraldehyd 1:10, für Luminal/Chloralhydrat 1:3. Anhand dieser äquieffektiven Dosenrelation wurde bei noch etwas niedrigerer Dosierung die Wirkung der Narkotica auf die Fallumdrehreaktion von labyrinthlosen Katzen untersucht. Dabei fand sich kein Wirkungsunterschied zwischen Rinden- und Stammittel.

Im Hinblick auf die zahlreichen entsprechenden Untersuchungsergebnisse an Hirnstammfunktionen glaubten wir aus unserem Ergebnis folgern zu dürfen, daß eine Differenzierung der Narkotica in solche mit prädilektivem Angriff an Hirnrinde oder Hirnstamm nicht möglich ist.

Bei der Untersuchung der Weckwirkung des Cardiazols in kleinen Dosen (10 mg/kg) auf die narkotisch gedämpfte Testfunktion der labyrinthlosen Katze beobachteten wir bei den sogenannten Rindenmitteln eine antagonistische Wirkung auf die Fallumdrehreaktion, nicht aber bei den sogenannten Stammitteln. Die Deutung der in dieser Versuchsanordnung zutage tretenden Unterschiede der Narkotica, mußte die Möglichkeit berücksichtigen, daß an der Nervenzelle selber Unterschiede der antagonistischen Beeinflußbarkeit verschiedener Narkotica durch

Cardiazol bestehen könnten. Diese Möglichkeit konnten wir ausschließen durch Versuche mit Cardiazol an Prominal- und Paraldehydnarkosen des homolateralen Beugereflexes der Spinalkatze. Es müssen also Wirkungsunterschiede der Narkotica an verschiedenen Funktionsgebieten des Gehirns eine Rolle spielen.

Da die Annahme einer primären Wirkung von kleinen Cardiazoldosen an der Hirnrinde als gut fundiert angesehen werden kann, decken also die Ergebnisse der Weckversuche mit Cardiazol an der Fallumdrehreaktion der labyrinthlosen Katze die Existenz eines Unterschiedes in der Wirkung niedriger Dosen der verschiedenen geprüften Narkotica auf, die im Sinne einer prädilektiven Wirkung an Hirnstamm oder Hirnrinde interpretiert werden können.

Diskussion. H. H. Frey (Hannover): Ein Unterschied in der Wirkung von Prominal und Luminal war nach den Untersuchungen von Butler nicht zu erwarten, da er zeigen konnte, daß Prominal im Organismus so schnell zu Phenobarbital (Luminal) demethyliert wird, daß er einen exakten Vergleich der hypnotischen Wirkung nicht für möglich hielt.

Die bessere Wirkung von Cardiazol gegen Chloralhydrat im Vergleich zu Barbituraten bei gleicher Narkosetiefe konnte in eigenen Versuchen an der Maus beobachtet werden.

H. J. Döring und E. Gerlach (Freiburg/Br.): Säurelösliche Phosphor-Verbindungen des Gehirns unter dem Einfluß von Anoxie, Ischämie und narkotischen Stoffen*

Mit 1 Textabbildung

Die wichtigsten säurelöslichen Phosphor-Verbindungen des Rattengehirns können durch spezielle papierchromatographische Arbeitsweise (Anwendung von 4 verschiedenen Lösungsmitteln in ein- und zweidimensionaler Richtung) voneinander getrennt und quantitativ bestimmt werden. Dieses Verfahren gibt die Möglichkeit, das Stoffwechselverhalten von Adenin-, Guanin- und Uridin-Nucleotiden sowie von Kreatinphosphat (Kr-P) und einigen anderen Phosphorsäure-Estern im Gehirn unter verschiedenen experimentellen Bedingungen zu studieren.

Chloralhydrat-narkotisierte Albinoratten (180—220 g) wurden 10 min nach Eintritt der Vollnarkose dekapitiert, der Kopf jeweils momentan in flüssigem Stickstoff eingefroren, das Großhirn in gefrorenem Zustand isoliert und bei 0° C mit Trichloressigsäure extrahiert. Nach papierchromatographischer Auftrennung ergaben sich im Mittel aus 10 Versuchen folgende Werte für die wichtigsten P-Verbindungen (μmol/g Gehirngewebe):

---

* Die Untersuchungen wurden großenteils am Pharmakologischen Institut der Universität Heidelberg durchgeführt.

Kr-P: 2,46 (± 0,07); ATP: 1,77 (±0,04); ADP: 0,57 (± 0,03); AMP: 0,26 (± 0,03); Guanosintriphosphat = GTP: 0,27 (± 0,01); Guanosindiphosphat = GDP: 0,22 (± 0,01); Uridintriphosphat = UTP: 0,14 (± 0,01); Orthophosphat: 4,14 (± 0,22).

Die gleiche Versuchsanordnung wurde angewendet, um den Einfluß künstlicher Beatmung während der Narkose auf das Verhalten energiereicher P-Verbindungen zu klären. Es ergab sich, daß hierbei eine signifikante Erhöhung des Kr-P von 2,46 auf 3,02 µmol/g bei entsprechendem Absinken des Orthophosphats von 4,14 auf 2,96 µmol/g eintrat; dagegen änderten sich die Konzentrationen energiereicher Nucleotide (ATP, ADP; GTP, GDP; UTP) praktisch nicht.

Bei der Dekapitation nicht-narkotisierter Ratten trat ein plötzlicher Zerfall von Kr-P und ATP ein. Verglichen mit den Werten, die im Gehirn der in Narkose dekapitierten Tiere erhalten wurden, betrug der Kr-P-Abfall etwa 50%, der ATP-Schwund etwa 25%.

Wurden die Gehirne nicht-narkotisierter oder narkotisierter Ratten nach Einfrieren der Ganztiere in flüssigem Stickstoff analytisch aufgearbeitet, so ergaben sich in beiden Versuchsanordnungen identische Werte für die Konzentrationen an Kr-P, ATP, Orthophosphat sowie anderen P-Verbindungen. Diese Werte unterschieden sich auch nicht von denjenigen, die nach Dekapitation narkotisierter, beatmeter Tiere ermittelt wurden.

Die Konzentrationen der energiereichen Phosphate im Gehirn unter dem Einfluß verschiedener narkotischer Stoffe (Diäthyläther; Chloroform; Chloräthyl; Evipan-Na; Pentothal-Na; Thiogenal; Avertin; Pernocton; Veronal-Na; Luminal-Na; Urethan; Paraldehyd; Chloralhydrat) zeigten keinerlei signifikante Unterschiede. Insbesondere konnte im Gegensatz zu Befunden von McIlwain; Stone u. a. in unseren Versuchen kein Anstieg von Kr-P oder ATP beobachtet werden. Auch war die Narkose-Dauer (Chloräthylrausch von 30 sec verglichen mit Luminal-Narkosen von 60 min) ohne Einfluß auf den Spiegel energiereicher P-Verbindungen. In weiteren Versuchen gelang außerdem der Nachweis, daß eine Dekapitation 5—10 min nach dem Aufwachen Chloräthyl-narkotisierter Tiere keinen signifikanten Kr-P- oder ATP-Zerfall bewirkte. *Unsere Ergebnisse machen es wahrscheinlich, daß alle verwendeten Narkotica allein auf Grund ihres sedativen Effektes die energiereichen Phosphate des Großhirns stabilisieren, so daß bei intensiver nervöser Reizung (z. B. Dekapitations-Reiz) kein momentaner Zerfall dieser Verbindungen verursacht wird.*

Akute Ischämie (1—$3^1/_2$ min) und Anoxie (1—5 min) führten zu einem beträchtlichen Absinken der Konzentrationen von Kr-P und ATP bei entsprechender Anreicherung der Abbauprodukte (Orthophosphat; ADP; AMP; IMP). Bei akuter Anoxie begann der Zerfall energiereicher

Phosphate im Gegensatz zur Ischämie mit einer Latenz von etwa 2 min. Sowohl im ischämischen als auch im anoxischen Gehirn zerfiel Kr-P rascher als ATP. Der Konzentrationsabfall von GTP und UTP (unter Anreicherung der entsprechenden Nucleosid-mono- und -diphosphate) erfolgte dagegen langsamer als der von ATP. Anoxie-bedingte (1 bis 5 min) Veränderungen im Gehalt des ZNS an energiereichen P-Verbindungen waren voll reversibel (vgl. Abb. 1). Um die Ausgangswerte für

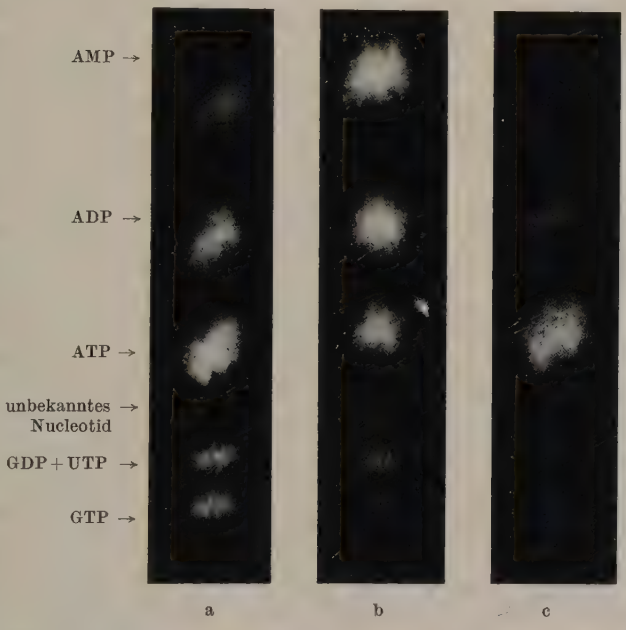


Abb. 1. UV-Bilder von Chromatogrammen (Photoprint-Verfahren bei 260 mμ) nach eindimensionaler Trennung der Nucleotide aus Gehirn-Extrakten. a) Kontrolle: Die dominierende Nucleotid-Fraktion ist hier ATP. b) Veränderungen im Nucleotid-Gehalt nach 3 min Anoxie. Starke Abnahme von ATP unter Anreicherung von ADP und AMP. c) 3 min nach künstlicher Beatmung vollständige Reversibilität der durch 3 min Anoxie verursachten Änderungen im Nucleotid-Gehalt. Die quantitative Bestimmung aller Nucleotide erfolgte grundsätzlich erst nach zweidimensionaler Chromatographie

Kr-P und ATP wiederherzustellen, genügte es im allgemeinen, die Tiere nach der Anoxie etwa ebensolange künstlich zu beatmen, wie der anoxische Zustand gedauert hatte.

Literatur

McIlwain, H.: Phosphates and nucleotides of the central nervous system. Biochemical Society Symposia No. 8 (Metabolism and function in nervous tissue). Cambridge University Press 1952. — Stone, W. E.: Acid-soluble phosphorus compounds and lactic acid in the brain. J. of Biol. Chem. **135**, 43 (1940).

J. Haase, D. Lücke, F. Scheler, R. Schütz, B. Mühlberg und W. Koll (Göttingen): Die Wirkung von Cholinesterasegiften auf Reflexsysteme der tiefspinalen Katze

Die zentralnervösen Wirkungen der Cholinesterasegifte werden heute fast allgemein auf die Inaktivierung der Cholinesterase im Zentralnervensystem zurückgeführt. Wenn das zutrifft, dann müßten solche Verbindungen qualitativ ähnlich wirken. Indessen sind die in der Literatur niedergelegten Ergebnisse (Literatur bei Gerard 1950; Holmstedt 1954; Holmstedt u. Skoglund 1953; Koelle u. Gilman 1949) nicht einmal für die Wirkungen auf die relativ einfachen Reflexe abgetrennter Rückenmarksabschnitte gleichartig und stimmen vielfach auch nicht für ein und dieselbe Substanz überein.

Die Diskrepanz der Beobachtungen und die auffälligen Unterschiede in der Applikationsweise der Cholinesterasegifte, der operativen Vorbereitung der Versuchstiere und in der Anwendung von Narkotica, Curare, Acetylcholin und dergleichen veranlaßten uns, die Möglichkeit eines Zusammenhanges zwischen Cholinesterasehemmung und zentralnervöser Wirkung der Cholinesterasegifte erneut zu prüfen. Unter einheitlichen Versuchsbedingungen wurden die Wirkungen von Physostigmin, Prostigmin, DFP, Mintacol, E 605, Sarin und Tabun auf verschiedene Rückenmarksreflexe dezerebrierter und zugleich tiefspinalisierter Katzen untersucht, die künstlich beatmet wurden und deren ständig registrierter Blutdruck in einem für die Rückenmarksfunktion einwandfreien Bereich gehalten wurde. Nach elektrischer Reizung entsprechender afferenter Nerven oder Dorsalwurzeln erfolgte die Ableitung der Potentiale des polysynaptischen Beugereflexes sowie der monosynaptischen Streck- und Beugereflexe von der Vorderwurzel L 7, S 1 oder S 2. Aus methodischen Gründen erzeugten wir mit kleinen Pernoctondosen eine geringe Dämpfung der Reflexerregbarkeit.

Bei intravenöser Injektion von Cholinesterasegiften fanden wir in der überwiegenden Mehrzahl unserer Versuche: 1. Steigerungen des monosynaptischen Streckreflexes und 2. verstärkte Entladungen des polysynaptischen Beugereflexes. Nicht einheitlich, mit Ausnahme von Tabun, ist die Wirkung am monosynaptischen Beugereflex, der allerdings auch an normalen guten Präparaten sehr empfindlich und variabel ist und, in bisher nicht näher bekannter Weise, stark von der „background-activity" des jeweiligen Präparates abzuhängen scheint. Dieser Reflex kann unter Cholinesterasegiften in etwa gleicher Häufigkeit sowohl größer als auch kleiner werden oder unbeeinflußt bleiben. Nur nach Tabun kommt es regelmäßig zu Depressionen.

Besonders erwähnenswert ist eine geringe reflexsteigernde Wirkung von Prostigmin auf den polysynaptischen Beugereflex, und die

Beobachtung, daß das sehr stark wirkende Sarin unmittelbar nach der Injektion eine flüchtige, etwa 10 sec dauernde stärkste Depression aller Reflexentladungen und auch des Rückenmarkpotentials hervorruft. Ähnlich flüchtige, wenn auch nicht so intensive Depressionen beobachteten wir gelegentlich bei einigen anderen Verbindungen. Die Reflexsteigerungen und auch die selteneren primären Depressionen werden durch Atropin auf ihre normale Größe zurückgebracht.

Die Möglichkeit, daß durch die intravenöse Injektion von Cholinesterasegiften periphere Receptoren erregt werden und über entsprechende Afferenzen die Reflexentladungen bahnen oder hemmen, haben wir für unsere Ergebnisse durch Deafferentierung, Nervendurchschneidungen, Gefäßunterbindungen und durch Exenterierung sehr weitgehend ausgeschlossen.

Die von Holmstedt u. Skoglund (1953) vertretene Meinung, gestützt durch ihre inkonstanten Ergebnisse mit intravenösen Tabuninjektionen, daß gleichmäßige Resultate nur durch die intraarterielle Injektion zu erhalten sind, weicht von unseren Erfahrungen mit intravenösen Injektionen ab. Zudem sind die mit intraarteriellen Tabuninjektionen von Holmstedt u. Skoglund erzielten Ergebnisse zwar einheitlich, aber von unseren nicht weniger einheitlichen Resultaten bei intravenöser Injektion sehr verschieden. Um die Ursache dieser Diskrepanz zu klären, haben wir ebenfalls die Wirkung *intraarterieller* Tabuninjektionen untersucht.

Steigerungen des polysynaptischen Beugereflexes, die von Holmstedt u. Skoglund als regelmäßig beschrieben wurden, haben wir nur in sehr wenigen Versuchen beobachtet. Mit den kräftigen Reflexsteigerungen nach intravenöser Tabuninjektion sind sie kaum zu vergleichen. In der Mehrzahl unserer Versuche blieb der polysynaptische Beugereflex unverändert oder wurde sogar deprimiert.

An den monosynaptischen Reflexen zeigten sich gleiche Wirkungen wie nach intravenöser Injektion: nämlich Steigerung des Streckreflexes und variable Ergebnisse am monosynaptischen Beugereflex. Die Resultate weichen von unseren eigenen Beobachtungen bei intravenöser Tabuninjektion teilweise ab und unterscheiden sich von den Ergebnissen Holmstedts u. Skoglunds noch stärker. Unser Verdacht, daß die Ursache aller Diskrepanzen die ungleichmäßige Substanzverteilung bei der intraarteriellen Injektion sein könnte, wurde durch folgende Feststellung bestätigt: 1. intraaortal injizierte kleine Farbstoffwolken werden häufig, wie unter der Lupe zu erkennen ist, zeitlich und örtlich ungleichmäßig verteilt. 2. Aus 2 verschiedenen Segmenten abgeleitete funktionell gleichartige Reflexentladungen können nach intraarterieller Tabuninjektion sehr verschiedene Beeinflussungen zeigen. 3. Ein Teil der primären Depression des polysynaptischen Beugereflexes kann durch

Atropin aufgehoben werden. Diese Beobachtung scheint uns bisher nur durch die Annahme erklärbar, daß durch Atropin Hemmungen beseitigt werden, die von viel stärker erregten anderen Segmenten oder Strukturen ausgehen.

Die Mängel der intraarteriellen Injektion schränken den Wert der Resultate, die mit dieser Methode erzielt wurden, sehr ein. Wir meinen, daß die intravenöse Injektion unter den von uns berücksichtigten Kautelen korrekte Resultate über die Wirkung von Cholinesterasegiften auf Spinalreflexe liefert. Diese Auffassung wird besonders durch Versuche mit gekreuztem Kreislauf zwischen einem Spendertier und der abgebundenen Aorta des Reflexpräparates unterstützt. Intravenöse Tabuninjektionen in das Spendertier rufen am Reflexapparat die gleichen Wirkungen hervor, wie bei direkter intravenöser Injektion unter Bedingungen, die im übrigen denen bei intraarterieller Injektion völlig gleichen.

Unsere weitgehend einheitlichen Versuchsergebnisse für 7 verschiedene Cholinesterasegifte erscheinen uns geeignet, gewisse Zweifel an der Annahme eines Zusammenhanges zwischen Esterasevergiftung und zentralnervöser Wirkung zu vermindern. Wir halten es aber nicht für ausgeschlossen, daß diese Verbindungen auch primär polarisationsändernde Wirkungen auf das Zentralnervensystem haben können. Anhaltspunkte dafür ergeben sich aus den bei Sarin und einigen anderen Substanzen gemachten Beobachtungen einer flüchtigen initialen Depression aller Potentiale. Die Tatsache, daß die reflexsteigernden Wirkungen der Cholinesterasegifte durch Atropin aufgehoben werden können, ohne daß die normale Erregungsübertragung ebenfalls unterbleibt, könnte vielleicht so zu deuten sein, daß Atropin nur die nicotinartigen Wirkungen eines hohen Acetylcholinüberschusses antagonisiert.

Literatur

Gerard, R. W.: Recent Progr. in Hormone Res. **5**, 37 (1950). — Holmstedt, B.: Pharmacol. Rev. **6**, 49 (1954). — Holmstedt, B., and C. R. Skoglund: Acta physiol. scand. (Stockh.) **29**, Suppl. 106, 410 (1953). — Koelle, G. B., and A. J. Gilman: J. Pharmacol. a. Exper. Ther. **95**, 166 (1949).

Diskussion. W. Schaumann (Frankfurt a. M.): Schweitzer u. Wright fanden mit Prostigmin bei i.v. Injektion nur lähmende Wirkungen, während Sie Erregungen beobachteten. Wie ist der Unterschied zu erklären?

Schlußwort J. Haase (Göttingen): Schweitzer u. Mitarb. injizierten Prostigmin sowohl intravenös als auch intrathekal. Bei intrathekaler Applikation ist mit unterschiedlicher und unkontrollierbarer Absorption zu rechnen. In unseren Versuchen mit intravenöser Injektion von Prostigmin zeigten sich reflexsteigernde Wirkungen deutlich am monosynapt. Streckreflex, während der monosynapt. Beugereflex häufig deprimiert wurde oder unbeeinflußt blieb. Auf die geringe reflexsteigernde Wirkung am polysynaptischen Beugereflex wurde bereits hingewiesen.

S. Sailer und Ch. Stumpf (Wien): Weitere Hinweise auf den cholinergen Mechanismus der „arousal reaction"

Die Versuche wurden an wachen, nicht curarisierten Kaninchen durchgeführt; die bioelektrische Tätigkeit des Neo-Cortex und des dorsalen Rhinencephalon (Hippocampus) wurde nach der stereotaktischen Methode von Monnier u. Laue mit Hilfe eines Schwarzer-Elektroencephalographen bipolar registriert. Zur Auslösung einer „arousal reaction" wurde das ascendierende reticuläre System in der Höhe der vorderen Vierhügel durch hochfrequente Impulsserien (250 Hz, Einzelimpulsdauer 1,5 msec, Gesamtdauer 5 sec), zur Auslösung einer „recruiting reaction" die unspezifischen Thalamuskerne durch niederfrequente Impulsserien (6 Hz, Einzelimpulsdauer 2 msec, Gesamtdauer: 5 sec) mit verschiedenen Spannungen gereizt. Physostigminum salicylicum wurde in verschiedener Dosierung intravenös verabreicht.

Die bioelektrische Tätigkeit des Cortex und des dorsalen Rhinencephalon wies nach Physostigmin-Verabreichung (0,1—1 mg/kg) weitgehend gleichartige Charakteristica auf wie während einer durch reticuläre oder periphere Reizung ausgelösten „arousal reaction": In beiden Fällen tritt

1. im präzentralen Cortex eine niedrige, hochfrequente Tätigkeit,
2. im parieto-occipitalen Cortex ein 5—6 Hz-Grundrhthymus und
3. im Hippocampus eine langsame, hohe und völlig regelmäßige Tätigkeit auf.

4. Zwischen der Frequenz dieser Hippocampustätigkeit und der Reizspannung einerseits, sowie zwischen der Frequenz der Hippocampustätigkeit und der Physostigmin-Dosis andererseits besteht eine signifikante positive Korrelation. Bei den elektrischen (reticulären oder peripheren) Reizungen handelt es sich um eine lineare Korrelation zwischen dem Logarithmus der Reizspannung und der initialen Hippocampusfrequenz (das ist jene Hippocampusfrequenz, die innerhalb der ersten 2 sec nach Reizbeginn vorliegt). Die initiale Hippocampusfrequenz zeigt noch während der Reizung einen annähernd exponentiellen Abfall.

5. Die „recruiting reaction" wird durch Physostigmin in gleicher Weise beeinflußt wie durch eine auf andere Weise ausgelöste „arousal reaction" (Erhöhung der Reizschwelle und Erniedrigung der Amplituden). Der Grad der Abschwächung der „recruiting reaction" ist der Höhe der Physostigmin-Dosis bzw. der Spannung der reticulären Reizung proportional.

Andere Pharmaka mit gleicher Wirkung auf die bioelektrische Tätigkeit des präzentralen Cortex verhalten sich bezüglich ihrer Wirkung auf die Hippocampustätigkeit prinzipiell andersartig: Lysergsäurediäthylamid bewirkt eine Desynchronisierung der Hippocampustätigkeit,

hat also auf die Hippocampustätigkeit die gleiche Wirkung wie auf die Tätigkeit des präzentralen Cortex; Methylamphetamin bewirkt zwar — ähnlich wie Physostigmin — eine Regularisierung und Rhythmisierung der Hippocampustätigkeit, deren Frequenz jedoch keine Abhängigkeit von der Höhe der Dosis zeigt und die unregelmäßiger ist als unter dem Einfluß von Physostigmin.

Aus den mitgeteilten Versuchsergebnissen geht eine weitgehende Analogie zwischen dem Effekt einer reticulären Reizung und der Wirkung von Physostigmin hervor. Somit dürfte ein weiterer Hinweis für die Richtigkeit der von Longo, sowie von Rinaldi u. Himwich vertretenen Ansicht vorliegen, daß der Funktion des ascendierenden reticulären Systems ein cholinerger Mechanismus zugrunde liege.

Literatur

Longo, V. G.: J. Pharmacol. **116**, 198 (1956). — Monnier, M., u. H. Laue: Helvet. physiol. Acta **11**, 73 (1953). — Rinaldi, F., and H. E. Himwich: A. M. A. Arch. of Neur. **73**, 396 (1955).

Diskussion. H. Herken (Berlin-Dahlem): Die verabreichten Eserindosen sind zum Teil hoch und dürften zu einer allgemeinen Konzentrationsänderung des Acetylcholins in allen Teilen des Gehirns führen. Wie verhält sich das Prostigmin, das nur eine geringfügige Störung des Acetylcholinstoffwechsels im Gehirn hervorruft und welche Veränderungen werden nach Applikation von Alkylphosphaten beobachtet?

Schlußwort S. Sailer (Wien): Prostigmin und B C 48, eine quaternäre Ammoniumbase, zeigten bei intravenöser Injektion keinen Effekt im EEG.

Eserin zeigte in der üblichen Dosierung (100—250 γ/kg i.v.) keine Nebenerscheinungen. Diese treten erst bei wesentlich höheren Dosen auf.

G. Kroneberg und H. J. Schümann (Frankfurt a. M.): Über die Wirkung des Reserpins auf das Nebennierenmark

Das Rauwolfia-Alkaloid Reserpin führt im Organismus nicht nur zu einer Freisetzung von Serotonin, sondern im Gehirn, im Herzmuskel und in den Nebennieren auch zu einer Verarmung an *Adrenalin* und *Noradrenalin* (Holzbauer u. Vogt, Carlsson u. Hillarp). Eigene Untersuchungen sollten Aufschluß über den Mechanismus dieser Wirkung geben.

An *Kaninchen* kommt es nach i.v.-Injektion von 4 mg/kg Reserpin zu einer fortschreitenden Abnahme des Nebennierenadrenalins, die nach 20 Std mit weniger als 5% des Normalgehaltes ihren Tiefpunkt erreicht. 3 Tage nach der Injektion liegt der Adrenalingehalt bei den überlebenden Tieren immer noch etwa 80% unter dem Ausgangswert. — Diese maximale Verarmung läßt sich mit Dosen von 1,0—4,0 mg/kg erreichen. Kleinere Reserpindosen haben eine schwächere Wirkung. 0,1 mg/kg führen nach 48 Std zu einer Verarmung um etwa 65%, die auch 4 Tage nach der Reserpinapplikation noch nicht ausgeglichen ist.

Auch bei *Katzen*, *Mäusen* und *Ratten* verursacht Reserpin eine Hormonverarmung des Nebennierenmarks. An Ratten und Mäusen braucht man etwa 20—25 mal höhere Dosen als bei Katzen und Kaninchen, um bei 20stündiger Versuchsdauer gleichstarke Verarmungen zu erzielen. Hierbei ändert sich das Mischungsverhältnis von Adrenalin und Noradrenalin der *Ratten-* und *Mäuse*-Nebenniere zugunsten des Adrenalins, während es in der *Katzen*-Nebenniere unverändert bleibt. In der *Kaninchen*-Nebenniere, die nur Adrenalin enthält, ließ sich auch bei extremer Verarmung kein Nor-adrenalin nachweisen.

Wie Reserpin führen die anderen sedativ wirkenden Rauwolfiaalkaloide *Rescinnamin* und *Canescin* zu einer Abnahme des Hormongehaltes im Nebennierenmark. *Chlorpromazin*, *Pentobarbital* und *Urethan* sind unwirksam.

Nach Splanchnicotomie verursachte Reserpin bei Kaninchen zwar noch an der „denervierten" Nebenniere eine Hormonverarmung; diese war aber immer weit schwächer als in der normal innervierten. Demgegenüber war Reserpin nach Durchtrennung des *Rückenmarks* in Höhe von C 6 wirkungslos. Splanchnicotomie scheint demnach am *Kaninchen* keine vollständige Denervierung der Nebennieren zu bedeuten. Im Gegensatz zu *Kaninchen* blieb bei Ratten auch nach Rückenmarksdurchschneidung die Reserpinwirkung auf das Nebennierenmark erhalten.

Die Befunde sprechen somit dafür, daß der Wirkung des Reserpins auf das Nebennierenmark 2 verschiedene Mechanismen zugrunde liegen können: 1. ein *zentral-nervaler Mechanismus*, der beim *Kaninchen* im Vordergrund steht, 2. ein *peripherer, nicht nervaler* Mechanismus, der bei der *Ratte* überwiegt.

Literatur

Holzbauer, M., and M. Vogt: J. of Neurochem. **1**, 8 (1956). — Carlsson, A., u. N. A. Hillarp: Kungl. fysiogr. Sällsk. Lund. Förh. **26**, Nr. 8 (1956).

Diskussion. G. Kroneberg (Mannheim-Waldhof): Die Beobachtung von Herrn Heim steht in Analogie zu klinischen Erfahrungen. In der Psychiatrie sieht man nach 1—2wöchiger Behandlung mit hohen Reserpin-Dosen bisweilen eine Phase erhöhten Bewegungsdranges (Turbulenz-Phase), die als Folge einer Stammhirn-Enthemmung aufgefaßt wird.

S. Radouco-Thomas, C. Radouco-Thomas (Genf) et E. Le Breton (Paris): Action de la Noradrénaline et de la Réserpine sur l'Analgésie expérimentale

Mit 1 Textabbildung

L'action de la Noradrénaline et de la Réserpine sur le seuil de la douleur et sur l'analgésie engendrée par la Péthidine[6] a été étudiée en expérimentation animale.

La stimulation des algorécepteurs a été effectuée par la méthode électrodentaire chez le cobaye[3,4]. La Réaction Algique Test est caractérisée par une hyperextension de la tête. Cette réponse est semblable à la „Schmerzreaktion" obtenue par Koll et Reffert[2], Soehring et collaborateurs[5] lors de l'excitation de la pulpe dentaire chez le chien. Le voltage-seuil de la Réaction Algique Test est de $3{,}7 \pm 0{,}1$ volts.

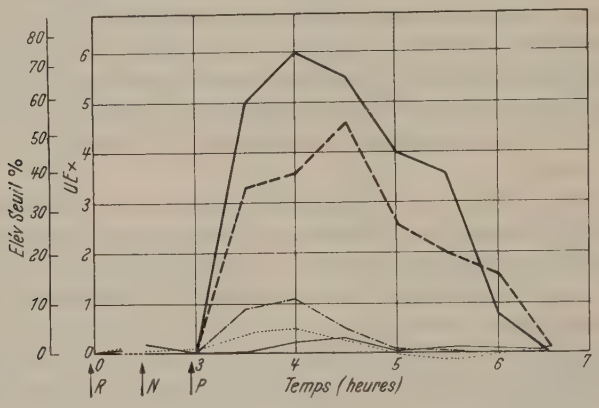


Abb. 1

——— Témoins; ——— Péthidine (↑ P) 10 mgr.kg.; ..... Réserpine (↑ R) 100 μgr.kg.; —·—·— Réserpine (↑ R) 100 μgr.kg. (0 h.) + Péthidine (↑ P) 10 mgr.kg. (3 h.) — — — Réserpine (100 μgr.kg. (0 h.) + Noradrénaline (↑ N) 100 μgr.kg. ($2^1/_2$ h.) + Péthidine (↑ P) 10 mgr.kg. (3 h.)

Pour l'analgésie, nous avons choisi comme élément de référence l'élévation du seuil engendrée par une dose moyenne de Péthidine (ou Dolantine).

L'administration des différents produits étudiés: Péthidine (10 mgr.kg), Noradrénaline (100 μgr. kg.), Réserpine (100 μgr. kg.), sérum physiologique. a été effectuée par voie sous-cutanée à des horaires variables sur des lots de 5—15 cobayes.

Les résultats de l'action de la Noradrénaline et de la Réserpine sur le seuil de la douleur et sur le seuil de l'analgésie ont été exprimés sous forme de relation dose/effet.

La Noradrénaline (100 μgr. kg.) entraine une élévation du seuil (30%) de la Réaction Algique Test.

En ce qui concerne l'analgésie, l'élévation du seuil engendrée par la Péthidine (10 mgr. kg.) est renforcée et surtout prolongée par l'administration de Noradrénaline (100 μgr. kg.) 30 minutes après l'injection de cet analgésique. Chez les animaux ayant reçu la Noradrénaline une heure après l'administration de la Péthidine, on assiste à un rebondissement de l'effet analgésique. Il semble donc y avoir une synergie analgésique entre la Noradrénaline et la Péthidine.

La Réserpine (100 μgr. kg.) n'a entrainé aucune modification quantitative (seuil de réaction) ou qualitative de la Réaction Algique Test. Son seuil et son aspect sont restés inchangés comme ceux des animaux témoins.

Par contre, l'administration de Réserpine contrecarre l'élévation du seuil engendrée par la Péthidine. Les animaux ayant reçu 10 mgr. kg. de Péthidine trois heures après l'injection de Réserpine (100 μgr. kg.) ne présentent plus qu'une faible analgésie; la valeur maximale de l'élévation du seuil tombe de 75% à 10% (figure 1).

L'analgésie réapparait par administration préalable de Noradrénaline ($\frac{1}{2}$ heure avant la Péthidine) aux animaux réserpinisés.

L'anti-analgésie de la Réserpine est maximale après trois heures et disparait progressivement jusqu'à la trentième heure.

Ces résultats permettent d'envisager le mécanisme de l'analgésie comme étant lié à une hyperactivité du système adrénergique, objectivée sur les plans nerveux, autonome et métabolique.

L'action anti-analgésique de la Réserpine pourrait être interprétée en relation avec son action anti-adrénergique centrale d'une part et avec le système tryptaminergique d'autre part[1].

Littérature

[1] Brodie, B. B., and P. A. Shore: Ann. New York Acad. Sci. **66**, 631 (1957). — [2] Koll, W., u. H. Reffert: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **190**, 687 (1938). — [3] Radouco-Thomas, C., S. Radouco-Thomas and Gl. Nosal: Bulletin on Narcotics **8**, 14 (1956). — [4] Radouco-Thomas, C., S. Radouco-Thomas u. Ed. Frommel: Helvet. physiol. Acta **15**, 340 (1957). — [5] Schaumann, O.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **196**, 109 (1940). — [6] Soehring, K., et F. Becher: Arch. internat. Pharmacodynamie **79**, 45 (1949).

Diskussion. P. Holtz (Frankfurt a. M.): Frage, ob neben den analgetischen auch hypnotische bzw. narkotische Wirkungen mit Nor-adrenalin oder Adrenalin beobachtet wurden.

W. Koll (Göttingen): Nous n'avons pas testé dans nos expériences l'action de l'Adrénaline, étudiée par certains auteurs avec la méthode électrodentaire chez le chien et la méthode thermique.

La durée de l'analgésie noradrénalinique est vraisemblablement réelle car nous avons adopté un rythme destimulation qui n'a entrainé aucune modification du seuil analgésique chez les animaux témoins.

P. Holtz (Frankfurt a. M.): L'administration isolée des divers produits: Péthidine, Noradrénaline et Réserpine a été faite à des doses qui n'ont pas entrainé d'effet sédatif. Les animaux étaient vifs et éveillés et la Réaction Algique Test a gardé ses aspects caractéristiques de spontanéité et de vigueur.

Nous n'avons pas non plus observé les phénomènes de sédations signalés par Leimdorfer et ses collaborateurs. La qualité de la Réaction n'a pas été affectée lors de l'administration combinée de l'analgésique et de la Noradrénaline.

E. Westermann (mit P. Holtz, H. Balzer und E. Wezler) (Frankfurt a. M.): Beeinflussung der Serotoninwirkung durch Hemmung der Monoaminoxydase (Beziehungen zum Mechanismus der Reserpinwirkung)

1. Die durch Reserpin verursachte Hormonverarmung des *Nebennierenmarks* läßt sich bei *Ratten* durch Blockierung der Mono-aminoxydase mit Iproniazid (Isopropyl-isonicotinsäurehydrazid) ebenso wie die Verarmung des *Gehirns* an Serotonin vollständig verhindern.

So regelmäßig sich diese Befunde an *Ratten* reproduzieren ließen, war es nicht möglich, bei *Meerschweinchen* und *Kaninchen* die durch Reserpin verursachte Hormonverarmung der Nebennieren durch Blockierung der Aminoxydase zu verhindern. Auch bei *Ratten* gelingt es nicht, die durch *Insulin* verursachte Hormonverarmung mit Iproniazid zu verhindern.

Die Versuchsergebnisse sprechen dafür, daß der Reserpinwirkung auf die Nebennieren zwei grundsätzlich verschiedene Mechanismen zugrunde liegen können: 1. eine *periphere Freisetzung* von Adrenalin in den chromaffinen Zellen des Nebennierenmarks. Diese Wirkung beruht auf der sozusagen *physikalisch-chemischen* Eigenschaft des Rauwolfiaalkaloids, das Bindungsvermögen der Zellen und Gewebe für biogene Amine aufzuheben, so daß diese frei und durch die Aminoxydase abgebaut werden. Hemmt man das abbauende Ferment — die Aminoxydase —, so wird die sonst erfolgende Hormonverarmung verhindert. 2. eine *zentral* bedingte, über die Nervi splanchnici erfolgende Hypersekretion, die — ähnlich wie die durch Insulin verursachte — sich durch Hemmung der Aminoxydase nicht verhindern läßt.

Die bei der *Ratte* durch Reserpin verursachte Hormonverarmung, die durch Blockierung der Aminoxydase verhindert wird, muß deshalb überwiegend auf einer *peripheren Freisetzung* von Adrenalin in den chromaffinen Zellen beruhen. Die bei *Kaninchen* trotz Blockierung der Aminoxydase erfolgende Hormonverarmung der Nebennieren muß ähnlich wie die Insulinwirkung *zentral* bedingt sein und über die Nervi splanchnici durch eine vermehrte *Sekretion* von Adrenalin zustande kommen. Diese Interpretation der Ergebnisse findet eine Bestätigung in dem Befund von Kroneberg u. Schümann, daß die nervale Ausschaltung der Nebennieren durch Rückenmarkdurchschneidung in Höhe von C_6 beim Kaninchen die Reserpinwirkung verhindert, bei der Ratte aber praktisch unbeeinflußt läßt.

2. Die *Evipannarkose* bei Mäusen wird durch *Iproniazid* (100 mg/kg i.m.) verlängert, wenn man dieses 1—3 Std vor Evipan injiziert; diese Wirkung wird mit einer Hemmung des Barbituratabbaues erklärt (Fouts u. Brodie). Injiziert man Iproniazid 18—44 Std vor Evipan, so ist die

Narkosedauer um so kürzer, je länger die Aminoxydase durch Iproniazid blockiert war.

Reserpin (1 mg/kg s.c. 2—4 Std vor Evipan), *Serotonin* (20—50 mg/kg i.p. 5 min vor Evipan) und *5-Oxytryptophan* (15 mg/kg i.v. 5 min vor Evipan) *verlängern* die Evipannarkose. Nach Blockierung der Aminoxydase ist die narkoseverlängernde Wirkung des *Reserpins* aufgehoben; *5-Oxytryptophan* wirkt jetzt erregend und verhindert die Narkose, während die *Serotonin*wirkung verstärkt ist.

l-Dioxyphenylalanin (Dopa) (20 mg/kg i.v.) und *Oxytyramin* (20 mg/kg i.p.) sind ohne Einfluß auf die Narkosedauer. Nach Blockierung der Mono-aminoxydase wirkt Dopa jedoch ähnlich wie 5-Oxytryptophan erregend und verhindert die Narkose.

Nach *elektrophysiologischen* Untersuchungen (Rinaldi and Himwich; Marazzi) verursacht Serotonin eine Hemmung der synaptischen Erregungsübertragung im Cortex und eine Stimulation des ascendierenden reticulären Systems („arousal reaction"). — Während das amin*abbauende* Ferment, die *Aminoxydase*, in allen Gehirnpartien vorkommt, findet sich das amin*bildende* Ferment, die Aminosäurendecarboxylase, nur in subcorticalen Anteilen, nicht aber im Cortex (Holtz u. Westermann).

Die Versuchsergebnisse werden unter dem Gesichtspunkt gedeutet, daß für die Art der Wirkung, ob narkoseverlängernd oder -verkürzend, ausschlaggebend ist, in welcher *Menge* und an welchen *Stellen* im Gehirn *freies* Amin zur Wirkung gelangt, sowie unter der Voraussetzung, daß die corticale Hemmwirkung des Serotonins Narkose*verlängerung*, seine stimulierende Wirkung im Bereich der Formatio reticularis Narkose*verkürzung* bedeutet.

Literatur

Fouts, J. R., and B. B. Brodie: J. Pharmacol. a. Exper. Ther. **116**, 480 (1956). — Holtz, P., u. E. Westermann: Naturwissenschaften **42**, 647 (1955); Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **227**, 538 (1956); im Druck (1957). — Kroneberg, G., u. H. J. Schümann: Verh. dtsch. Pharmakol. Ges. Freiburg 1957. — Marazzi, A. S., and E. R. Hart: Science (Lancaster, Pa.) **121**, 365 (1955). — Marazzi, A. S.: Ann. New York Acad. Sci. **66**, 498 (1957). — Rinaldi, F., and M. E. Himwich: Arch. of Neur. **73**, 387 (1955); Ann. New York Acad. Sci. **61**, 27 (1955).

Diskussion. H. Herken (Berlin-Dahlem): Ich habe Zweifel, ob die interessanten Beobachtungen von Herrn Westermann allein durch die Unterschiede im Verhalten des Serotonins erklärt werden können. Bekanntlich führt nicht nur Reserpin, sondern auch Amphetamin zu einer Verminderung des Serotoningehaltes im Gehirn, Bei dem Amphetamin handelte es sich dabei um Dosen, die einwandfrei zentrale Erregungserscheinungen auslösen. Die Versuchsanordnung wird durch die gleichzeitige Verabreichung von Iproniazid kompliziert, weil diese Substanz neben der Monoaminoxydase auch die von Brodie untersuchten Fermente in den Mikrosomen der Leber hemmt. Ich möchte Herrn Westermann fragen, ob er Versuche über die

Schlafdauer nach Evipaninjektion angestellt hat, wenn der Serotoningehalt des Gehirnes durch Reserpin oder Amphetamin vermindert war. Mit dieser Versuchsanordnung läßt sich vielleicht am einfachsten zeigen, ob die Freisetzung von Serotonin für das Zustandekommen der narkotischen Wirkungen bedeutungsvoll ist.

F. Heim (Erlangen): Bei 20% mit 1—2 mg Reserpin/g KG vorbehandelten Mäusen tritt 3—4 Tage später eine Erregung auf, die sich in Motilitätssteigerung durch O_2-Verbrauchssteigerung äußert.

Schlußwort E. Westermann: Versuche mit *Amphetamin* haben wir nicht gemacht. Aus Versuchen von Paasonen und M. Vogt an Hunden geht jedoch hervor, daß Amphetamindosen, die schon eine deutliche Erregungswirkung haben, den Amingehalt des Gehirns noch nicht nachweisbar vermindern, daß vielmehr hierzu Dosen erforderlich sind, die in den meisten Fällen letal wirken. — Durch Hemmung der Monoaminoxydase wird nicht nur die Barbiturat-, sondern auch die *Avertin*narkose verkürzt. Hierbei ist die Dauer der Fermenthemmung von Bedeutung: 2 Std vor Avertin injiziertes Iproniazid verkürzt die Narkosedauer nur um etwa 20%, 20 Std vorher gegebenes Iproniazid jedoch um mehr als 60%. Daß nicht die nach Reserpin erfolgende *Verarmung* des Gehirns an biogenen Aminen als solche die Ursache der Narkoseverlängerung ist, sondern die *Freisetzung* und damit das Wirksamwerden bisher gebundenen Amins, wird auch dadurch wahrscheinlich, daß Reserpin — 20—24 Std vor Evipan — zu keiner nennenswerten Verlängerung der Evipannarkose mehr führt, d. h. zu einem Zeitpunkt, zu dem die *Verarmung* des Gehirns an Serotonin und Noradrenalin vermutlich maximal ist

H. J. Schümann (Frankfurt a. M.): Über die Speicherung von Adrenalin und Noradrenalin in den chromaffinen Granula des Nebennierenmarks und den Einfluß des Reserpins und Insulins

Nach Blaschko, Hagen u. Welch sowie Hillarp u. Nilsson werden die Hormone des Nebennierenmarks — Adrenalin und Noradrenalin — in granulären Elementen der chromaffinen Zellen gespeichert. Eigene Untersuchungen mit dem an Brenzkatechinaminen besonders reichen Nebennierenmark von Hühnern, das neben Adrenalin durchschnittlich 30—40% Noradrenalin enthält, sollten Aufschluß geben über die Verteilung der beiden Hormone in diesen Granula.

Werden Granulasuspensionen in isotonischer Saccharoselösung über hypertonische Saccharoselösungen zunehmender Dichte (1,4—2,0 molar) gelagert und mit verschieden starker Zentrifugalkraft zentrifugiert, so lassen sich Granulafraktionen gewinnen, von denen die eine — spezifisch leichtere — ausschließlich Adrenalin, die andere — spezifisch schwerere — praktisch nur Noradrenalin enthält. Damit ist erwiesen, daß es Granula gibt, die nur Adrenalin und solche, die nur Noradrenalin enthalten (Schümann). Daneben bleibt die Möglichkeit bestehen, daß es neben diesen beiden Arten noch eine dritte Art granulärer Elemente gibt, die beide Hormone gleichzeitig enthält.

In weiteren Versuchen wurde neben Adrenalin und Noradrenalin auch der Eiweiß-Stickstoff- und ATP-Gehalt der einzelnen Fraktionen

bestimmt und der Einfluß einer durch Insulin und Reserpin verursachten Hormonverarmung des Nebennierenmarks untersucht. Es ergab sich, daß der Abnahme an Hormonen eine Abnahme des ATP-Gehaltes parallel geht. Demgegenüber blieb der Eiweiß-Stickstoff-Gehalt der Fraktionen auch bei stärkster Hormonverarmung unverändert. Die Befunde sprechen dafür, daß ATP für die Speicherung und Sekretion der Amine von Bedeutung ist und daß die Sekretion der Hormone nicht mit einer Sekretion granulärer Elemente einhergeht.

Literatur

Blaschko, H., P. Hagen and A. D. Welch: J. of Physiol. **129**, 27 (1955). — Hillarp, N. A., u. B. Nilsson: Acta physiol. scand. (Stockh.) **31**, Suppl. 113, 79 (1954). — Schümann, H. J.: J. of Physiol. **137**, 318 (1957).

Diskussion. F. Leuschner (Erlangen): Reserpin führt zur Appetitlosigkeit in dieser Dosierung, die bei kleineren Säugetieren in einer hochgradigen akuten Auszehrung gipfeln kann. Es wird gefragt, ob die mit dem Hungerzustand verbundene — teils extreme — Verminderung funktionswichtiger Eiweißkörper für die Fraktionsergebnisse eine Bedeutung besitzt.

H. Herken (Berlin-Dahlem): Ich wäre Herrn Schümann für einige Hinweise über die Methodik der ATP-Bestimmung dankbar. Die käuflichen ATP-Präparate sind meistens nicht rein. Es würde mich interessieren, ob andere triphosphorylierte Nucleotide aus der Purin- und Pyrimidinreihe ausgeschlossen werden konnten.

Schlußwort H. J. Schümann zu Herken: ATP wurde mit Hilfe des von Strehler und Totter angegebenen Feuerfliegen-Bioluminescenztestes bestimmt. Diese Methode ist spezifisch für ATP. Der ATP-Gehalt des uns von der Firma Boehringer-Mannheim zur Verfügung gestellten Präparates wurde nach papierchromatographischer Abtrennung des ATP (Eggleston und Hems) durch Bestimmung des Phosphorgehaltes (Berenblum und Chain) ermittelt.

Zu F. Leuschner: Die Kontrolltiere wurden wie die Versuchstiere, die Reserpin bzw. Insulin erhielten, 20 Std lang nüchtern gehalten, Wasser stand ad libitum zur Verfügung, so daß vergleichbare Bedingungen für die Bestimmung des Eiweißstickstoffes in den Granula und den einzelnen Granulafraktionen gegeben waren.

H. Rodegra, G. Röder, H. J. Schmermund und K. Soehring (Hamburg): Wirkung von 5-Hydroxytryptamin auf die isolierte Nabelschnurarterie

Der Verschluß der Nabelschnurarterie nach der Geburt hat Gynäkologen, Anatomen und Pharmakologen seit langem beschäftigt, ohne daß das Phänomen bis heute als voll geklärt angesehen werden kann.

Den Arbeiten von Goerttler und seiner Schule sowie älteren anatomischen Befunden kann man entnehmen, daß der spiralige Bau der Muskulatur, das Fehlen von Adventitia und elastischen Elementen, schließlich die Existenz der Sulze ideale Bedingungen für die Gefäßfunktion in utero und nach der Geburt schaffen. Filippi aus der Schule von Häusler hat mit pharmakologischen Methoden die histologischen

Befunde von Goerttler, Gänshirt et al. bestätigen können. Darüber hinaus hat er die Ansprechbarkeit der Muskulatur auf verschiedene körpereigene und körperfremde Wirkstoffe untersucht und besonders intensive Kontraktion nach *Histamin* in der Konzentration 10^{-7} g/ml festgestellt.

Auf Anregung von Schmermund haben wir uns erneut mit der Frage der physiologischen Auslösung der Kontraktur dieser Arterie beschäftigt, da weder Histamin noch der gut wirksame *reine* Sauerstoff hierfür in Betracht kommen. Insbesondere reicht der O_2-Partialdruck der Luft für diesen Effekt nicht aus.

Die Auslösung der Kontraktur durch aus Thrombocyten freigesetzte Wirkstoffe ist denkbar. In erster Linie schien uns *5-Hydroxytryptamin* (5-HT) von Interesse. Wie Untersuchungen von De Robertis u. Mitarb. gezeigt haben, führt Einwirkung von Thrombin, das unter der einsetzenden Stase mit Hilfe der Gewebsthrombokinase gebildet werden kann, zum Zerfall der Thrombocyten.

Mit einer von Röder angegebenen Versuchsanordnung, die die Verkürzung direkt in 10^{-6} cm zu messen gestattet, prüften wir daher den Einfluß von 5-HT auf durch Schnitt im Winkel von 45° gewonnene Arterienstreifen. Einzelheiten des Verfahrens werden in der Demonstration von Rodegra, Röder und Soehring gezeigt. In 27 Versuchen führte 5-HT bei der Konzentration 10^{-7} g/ml eine Kontraktion herbei, die im Mittel über der Wirkung von Histamin bei der gleichen Konzentration lag. Das Maximum wurde innerhalb von 3—6 min erreicht.

Nach Erspamer ist die 5-HT-Konzentration im Plasma — vorwiegend in den Thrombocyten — von der gleichen Größenordnung. Der Verschluß der Nabelarterie nach der Geburt nimmt etwa die gleiche Zeit in Anspruch.

Zusammen mit den referierten Befunden anderer Autoren lassen unsere Ergebnisse auf eine Beteiligung von 5-HT bei der Auslösung der Kontraktur der Nabelschnurarterie nach der Geburt schließen.

M. Frahm (Hamburg): Beeinflussung der Meerschweinchenatmung durch 5-Hydroxytryptamin (5-HT)

Mit einer körperplethysmographischen Methode (Rußregistrierung) wurde die Wirkung von *Histamin-* bzw. *5-HT*-Aerosolen auf die Atmung von Meerschweinchen registriert. Als Beurteilungskriterien dienten Frequenz, Amplitude, Latenzzeit bis zum Eintritt der Krampfatmung und Anfallshäufigkeit.

Histamin (0,5%) führte mit zunehmender Inhalationsdauer zu *Frequenzsteigerung* und *Amplitudenabnahme*. Die *Latenzzeit* betrug im Mittel 4 min, die *Anfallshäufigkeit* bei unausgelesenen Tieren 50—60%.

Nach Eintritt der Krampfatmung mußten die erschlafften Tiere zur Vermeidung von Kollaps und Exitus aus dem Aerosol entfernt werden.

5-HT (0,5—0,7%), berechnet auf Base, verursachte ebenfalls *Frequenzsteigerung*, die im Vergleich mit Histamin geringer war. Die *Amplitudenabnahme* war deutlich kleiner als unter Histamin. *Latenzzeit* rund 3 min, *Anfallshäufigkeit 30—40%*. Trotz weiterer Aerosolzufuhr wurden die Anfälle in 40—60 sec durch einen Atmungstyp mit hoher Frequenz und Amplitude ersetzt, der zur Normalatmung überleitete. Gelegentlich trat in der 5.—6. min ein zweiter, leichterer Anfall auf.

Zur Differenzierung wurden *Vorbehandlungen* mit Atropin und Isopropyl-noradrenalin in Anlehnung an Friebel (1955) vorgenommen: *Atropin* — 300 γ/kg, 120—150 min vor Aerosolzufuhr i.p. — verminderte die *Histamin*-bedingte Frequenzsteigerung etwas. Die Latenzzeit wurde wenig verlängert, die *Anfallshäufigkeit nicht beeinflußt*. Der *5-HT-Effekt* wurde gleichsinnig, wenn auch stärker beeinflußt: Die *Anfallshäufigkeit* sank auf 22%, die Latenzzeit wurde von 3 auf 6 min verlängert.

Isopropyl-noradrenalin (0,2—1%-Aerosol, 5 min vor den Reizstoffen) hatte sowohl gegen Histamin als auch gegen 5-HT-Inhalation deutliche Schutzwirkung, unter Histamin trat sogar vertiefte und verlangsamte Atmung ein.

Beide Medikamente erwiesen sich also sowohl gegen Histamin- als auch gegen *5-HT*-Pneumokonstriktion prophylaktisch als wirksam.

Deutliche Unterschiede wurden hingegen in *Narkose* (30 mg/kg Nembutal i.p.) und nach Vorbehandlung mit *Pantocain*- (0,5—2%) und *Thesitaerosolen* (0,25—1%) gefunden:

Nembutal erhöhte die Frequenzsteigerung nach *Histamin*, verlängerte die Latenzzeit auf 6 min und *setzte die Anfallshäufigkeit auf die Hälfte herab*. Nach *5-HT* wurde die Latenzzeit ebenfalls verlängert, die *Anfallshäufigkeit jedoch fast verdoppelt*. Zur Vermeidung letaler Ausgänge mußten jetzt die Tiere unter 5-HT aus dem Versuch genommen werden.

Mit den *Lokalanalgeticis* wurde das gleiche unterschiedliche Verhalten registriert: Während die *Histaminwirkung* in allen Kriterien *abgeschwächt* wurde, war eine *auffallende Verstärkung der 5-HT-Wirkung* zu beobachten.

Histamin- und *5-HT*-Wirkung auf die Atmung lassen sich also pharmakologisch differenzieren, wenn anch die Ursache des unterschiedlichen Verhaltens vorerst ungeklärt bleibt.

K. H. Ginzel (Birmingham): Die Wirkung von 5-Oxytryptaminen und Antagonisten auf den peristaltischen Reflex

Das autonome Nervengeflecht des Darmes, das dem peristaltischen Reflex zugrunde liegt, kann in mancher Hinsicht als ein Paradigma nervöser Abläufe im Gehirn dienen. Lysergsäurediäthylamid (LSD-25),

ein hochwirksames Phantastikum, hemmte den am Meerschweinchendünndarm nach der Methode von Trendelenburg ausgelösten peristaltischen Reflex in Konzentrationen von etwa 10^{-6}. Die Hemmung betraf nur die Entleerungsphase des Reflexes und erstreckte sich gleichzeitig auf die durch Nicotin ausgelöste Kontraktion des Längsmuskels. Damit ergab sich ein dem Hexamethonium ähnliches Wirkungsbild; LSD-25 zeigte jedoch keine hemmende Wirkung auf das obere Halsganglion noch auf den depressorischen Vagusreizeffekt. BOL 148, das 2-Brom-Derivat von LSD-25, welches keine der psychologischen Wirkungen des LSD-25, besitzt, erwies sich in Bezug auf die Peristaltikhemmung als dem LSD-25 gleichwertig oder sogar überlegen. Beiden Substanzen ist eine starke Anti-Oxytryptamin-Wirkung eigen. Weitere Verbindungen mit ausgeprägten Oxytryptamin-antagonistischen Eigenschaften hemmten ebenfalls den peristaltischen Reflex. Oxytryptamin selbst, das in einer Reihe von Testobjekten seine eigene Wirkung aufheben kann, falls es in rascher Folge oder in mehrfach erhöhter Menge angewendet wird, zeigte in Konzentrationen von $5 \cdot 10^{-7}$ bis 10^{-5} eine Hemmwirkung auf die Entleerungsphase des peristaltischen Reflexes.

Diese Befunde weisen auf die Möglichkeit einer physiologischen Bedeutung des 5-Oxytryptamins beim peristaltischen Reflex.

G. Lange (Tübingen): Calorimetrische Methode zur Messung der Herzmuskeldurchblutung

Die Methode beruht auf dem von F. A. Gibbs zuerst angewandten Prinzip der Messung der Gewebsdurchblutung durch Bestimmung der von einem stationär aufgeheizten Körper abgeführten Wärmemenge. Die Messungen wurden mit Differentialthermoelementen durchgeführt, die direkt in die Herzmuskulatur von narkotisierten Hunden eingezogen wurden, ohne durch Eingriffe an den Gefäßen des Herzens den Blutzufluß zum Herzen oder den Abfluß zu beeinträchtigen. Damit die Thermoelemente eine feste und möglichst unveränderliche Berührung mit dem untersuchten Gewebe haben, wurden 0,1—0,16 mm dicke Drähte verwendet, die von der Herzmuskulatur entsprechend der Zunahme der Krümmung bei der Kontraktion gebogen werden. Sie waren durch mehrere Schichten eines Brennlacks isoliert.

Jedes Thermoelement enthält 2 hintereinander geschaltete Lötstellen. Eine Lötstelle dient zur Messung der Muskeltemperatur. Die zweite Lötstelle wird über einen 4 mm langen geheizten Körper mit einem gemessenen Wechselstrom aufgeheizt. Durch den Blutstrom wird Wärme von der aufgeheizten Lötstelle abtransportiert, so daß sich deren Temperatur in Abhängigkeit vom Blutstrom ändert. Die Differenz der beiden

Thermoströme wird über ein spannungsempfindliches Spiegelgalvanometer fortlaufend registriert. Durch dieses Verfahren wird eine scheinbare Wärmeleitzahl des durchbluteten Gewebes bestimmt, deren Größe von der Geschwindigkeit des Blutstroms durch das Gewebe abhängt. Im Bereich der physiologischen Durchblutung des Herzmuskels ist die Änderung der mit dem beschriebenen Verfahren gemessenen Wärmeleitzahl des Gewebes den Änderungen der Durchblutung meist nicht proportional. Deshalb müssen die angewandten Elemente in der gegebenen Lage durch isolierte Durchströmung der Herzen nach dem Versuch geeicht werden. Die auf diese Weise aus den Wärmemessungen erhaltenen Durchblutungsgrößen stimmten mit den Ergebnissen gleichzeitig mit der N_2O-Methode nach Kety und Schmidt durchgeführter Messungen überein.

Diskussion. G. Frey (Hannover): Es wird gefragt, welchen Einfluß die im Verlauf längerer Versuche zu erwartende Senkung der Körpertemperatur auf die Methodik hat, bzw. ob die Körpertemperatur konstant gehalten wurde.

Schlußwort G. Lange: Die Körpertemperatur der Versuchstiere wurde mit Hilfe von Heizkissen annähernd konstant gehalten. Änderungen der Körpertemperatur haben keinen Einfluß auf die Messung, da mit dem Differentialthermoelement die Änderung einer Übertemperatur unabhängig von Änderungen der Organtemperatur gemessen wird.

H. Mercker, W. Lochner und E. Gerstenberg (Göttingen): Arterielle und venöse Sauerstoffsättigungen bei Cyanidvergiftung

In Fortsetzung von Arbeiten über Stoffwechsel- und Kreislaufreaktionen bei der Cyanidvergiftung (Mercker u. Roser) wurde das Verhalten der arteriellen und venösen Sauerstoffsättigungen im venösen Mischblut und Coronarsinusblut untersucht. An Hunden in Morphin-Chloralose-Urethan-Narkose wurden intravenöse Dauerinfusionen von KCN (0,08 mg/kg/min) durchgeführt. Die Sauerstoffsättigungen wurden im arteriellen Blut, im venösen Mischblut und im Coronarsinusblut im Abstand von 3 min spektrophotometrisch bestimmt (Methode nach Nahas). Zusätzlich wurde in den Versuchen entweder die Sauerstoffsättigung des venösen Mischblutes oder die des Coronarsinusblutes fortlaufend gemessen (Methode siehe Lochner, Mercker u. Schürmeyer). Außerdem wurde der Blutdruck registriert und Pulsfrequenz und Atmung gezählt.

Während der KCN-Infusion stieg die Sauerstoffsättigung des Coronarsinusblutes sehr bald (innerhalb 3—4 min) auf Werte nahe den arteriellen an. Im venösen Mischblut erfolgte die Abnahme der arterio-venösen Sauerstoffdifferenz wesentlich langsamer. Gegen Ende des Versuches konnte bei Absinken des arteriellen Druckes sogar eine Wiederzunahme der arterio-venösen Sauerstoffdifferenzen beobachtet werden. Daraus ist zu schließen, daß bei der Cyanidvergiftung unter den von uns gewählten Bedingungen der oxydative Stoffwechsel beim Kreislaufkollaps kurz vor Absterben des Versuchstieres noch nicht vollständig

blockiert ist. An dem schnellen Anstieg der venösen Sauerstoffsättigung im Coronarblut im Beginn der Vergiftung dürfte neben der Stoffwechselhemmung auch eine Zunahme der Coronardurchblutung beteiligt sein. Die Befunde lassen eine Sauerstofftherapie bei der Cyanidvergiftung in gewissen Fällen als sinnvoll erscheinen.

Literatur

Lochner, W., H. Mercker u. E. Schürmeyer: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **227**, 360 (1956). — Mercker, H., u. F. Roser: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **230**, 125 (1957). — Nahas, G. G.: Science (Lancaster, Pa.) **113**, 723 (1951).

Diskussion. O. Eichler (Heidelberg): Bei Sektionen an Blausäurevergifteten fanden wir eine Schwellung der Capillarendothelien. Der Vergiftungsverlauf war nicht ganz akut.

Auch nach diesem Befund ist eine O_2-Gabe bei HCN-Vergiftung nicht sinnlos. (Publikation Poeppick, Frankfurt, Z. für Pathologie, 1942).

Schlußwort H. Mercker (Göttingen) zu O. Eichler: Ich danke Herrn Prof. Eichler sehr für den Hinweis auf die Capillarschädigungen bei Cyanidvergiftung. Für eine Schädigung des Herzmuskelgewebes, insbesondere des Stoffwechsels dürfte auch die unter Cyanid zu beobachtende Umkehr der AVD Lactat sprechen.

Zu M. Kiese: Die Blockade der Cytochromoxydase durch Cyanid ist als der wichtigste Faktor bei der Cyanidvergiftung anzusehen. Es kann jedoch sein, daß im Verband des Organismus durch ein Versagen des Kreislaufs oder auch der Atmung der Verlauf der Vergiftung zusätzlich ungünstig beeinflußt wird. Von Paulet[1] und von Gordh u. Norberg[2] wurden günstige Wirkungen der Sauerstoffeinatmung bei experimenteller Cyanidvergiftung mitgeteilt. — Messungen der Hirndurchblutung und der Sauerstoffsättigung des venösen Hirnblutes unter Cyanideinwirkung haben wir bislang nicht vorgenommen.

H. Hochrein und H. J. Döring (Freiburg/Br.): Das Verhalten der energiereichen Phosphate am normalen und insuffizienten Herzen und bei verschiedenen Belastungsgraden am Herz-Lungen-Präparat (HLP) des Meerschweinchens*

Mit 1 Textabbildung

Das HLP des Meerschweinchens wurde mit 20 ml heparinisiertem Rattenblut durchströmt. Registriert wurden der Blutdruck auf der arteriellen Seite, das Minutenvolumen (M.V.) mit Hilfe des Bubble-flow-meters (nach Braun, Althoff u. Taugner) und der Druck im rechten Vorhof. Durch Niveauänderungen des Vorratsgefäßes wurden Leistungsproben durchgeführt. Für die Bestimmung der Konzentration energiereicher Phosphate wurde nach folgenden methodischen Punkten verfahren:

1. Abschneiden und momentanes Einfrieren des schlagenden Herzens in flüssigem Stickstoff.
2. Herstellung eines trichloressigsauren Extraktes.

[1] Arch. int. Phys. **63**, 340 (1955).

[2] Acta physiol. scand. **13**, 26 (1947).

* Die Untersuchungen wurden großenteils am Pharmakologischen Institut der Universität Heidelberg durchgeführt.

3. Bestimmung des Kreatin-Phosphats (Kr.-P) nach Eggleton u. Eggleton.

4. Papierchromatographische Trennung und quantitative Bestimmung von ATP, ADP und Ortho-Phosphat nach dem prinzipiellen Verfahren von Fleckenstein u. Janke unter Anwendung der Lösungsmittel von Gerlach, Weber u. Döring.

Die jeweiligen Phosphatanalysen wurden nach Berenblum u. Chain durchgeführt.

Normalherzen am HLP wurden untersucht, wenn der periphere Widerstand auf etwa 50 mm Hg eingestellt war, das M.V. durchschnittlich 25 ml betrug und der Druck im rechten Vorhof nach wiederholten Belastungsproben keine wesentliche Steigerung zeigte. Für diese Herzen ergaben sich folgende Werte in µmol/g Herzmuskel (Mittelwerte aus 9 Versuchen): Kr.-P 7,10 (± 0,31), ATP 3,17 (± 0,07), ADP 0,87 (± 0,03) und Ortho-Phosphat 2,59 (± 0,44).

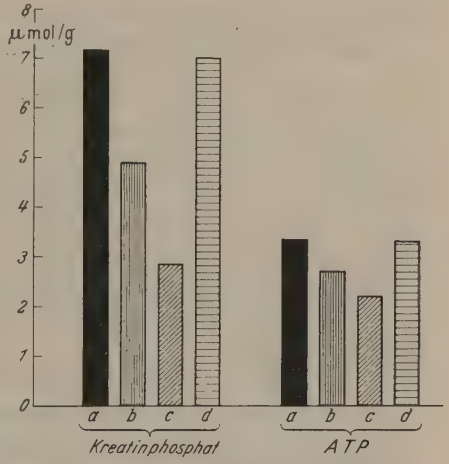


Abb. 1. Kreatinphosphat- und ATP-Gehalt im Herzen des Meerschweinchen-HLP unter verschiedenen experimentellen Bedingungen: *a* im normalen HLP, *b* an der Suffizienzgrenze, *c* bei Insuffizienz, *d* nach Strophanthin-Behandlung Phenylbutazon-geschädigter Herzen

Das Meerschweinchen-Herz im HLP zeigt für alle analysierten P-Verbindungen gleiche Werte wie das Meerschweinchen-Herz in situ.

Das Herz des Meerschweinchen-HLP kann durch Phenylbutazon-Infusion gezielt geschädigt werden (Hochrein, Wilke u. Strapazakis). Dieses Verfahren gab die Möglichkeit, die Leistungsfähigkeit bis zur Suffizienzgrenze herabzusetzen. In diesem Stadium der Dekompensation ergab sich ein Abfall des Kr.-P um 30% und des ATP um 15% bei entsprechendem Anstieg des Ortho-Phosphats. Die Dekompensation war durch Strophanthin zu beheben, wenn im allgemeinen der Kr.-P-Gehalt des Herzmuskels nicht um mehr als 30% abgesunken war. Nach der Strophanthingabe kam es zu einer raschen Erholung der Leistungsfähigkeit, sowie zum Anstieg der energiereichen Phosphate auf die Ausgangswerte des normalen HLP-Herzens. Wurde das Herz über die Suffizienzgrenze hinaus geschädigt, so kam es zu einem weiteren Absinken von Kr.-P und ATP. Strophanthin war in diesem Stadium wirkungslos.

In weiteren Versuchen wurde durch Veränderung des venösen Angebots das M.V. zwischen 10 und 90 ml variiert und jeweils der Kr.-P-Gehalt des Herzmuskels bestimmt. Es kann als wahrscheinlich gelten,

daß eine lineare Beziehung zwischen Kr.-P-Gehalt und Volumarbeit des Herzmuskels insofern besteht, als mit steigendem M.V. Kr.-P kontinuierlich absinkt (ATP-Konzentration unverändert).

Literatur

Berenblum, I., and E. Chain: Biochemic. J. **32**, 295 (1938). — Braun, W., H. Althoff u. R. Taugner: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **222**, 529 (1954). — Eggleton, G. P., and P. Eggleton: J. of Physiol. **68**, 193 (1929). — Fleckenstein, A., u. J. Janke: Pflügers Arch. **258**, 177 (1953). — Gerlach, E., E. Weber u. H. J. Döring: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **226**, 9 (1955). — Hochrein, H., H. J. Wilke u. M. Strapazakis: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. im Druck.

W. Kukovetz (Graz): Über die Leistungsreserve des hypothermen Herzmuskels am Herz-Lungen-Präparat der Ratte

Reissmann u. Kapoor (1956) fanden am HLP von Hunden in Hypothermie eine Abnahme der Leistungsfähigkeit. Es wurde jedoch am belasteten Herzmuskel des Hundes sowohl die Coronardurchblutung (Anrep u. Häusler 1929, Berne 1954) als auch der Wirkungsgrad (Reissmann u. van Citters 1956) in Unterkühlung höher gefunden als unter normaler Körpertemperatur.

Es wird über Vergleichsuntersuchungen der maximalen Herzleistung am Ratten-HLP unter arterieller und venöser Belastung bei verschiedenen Temperaturen (37°, 32°, 27°, 22° C) berichtet. Als Kriterien der maximalen Belastbarkeit des Herzmuskels wurden verwendet:

1. Die Höhe des venösen Druckes, bei dem es nach stufenweiser Steigerung zu keiner weiteren Zunahme bzw. schon zur Abnahme des Minutenvolumens und meistens auch des Blutdruckes kam (V_{max}), und

2. Die Höhe des peripheren Widerstandes, bei dem es nach stufenweiser Steigerung zu einer Abnahme des Minutenvolumens, ebenfalls meistens mit einem Blutdruckabfall verbunden, kam (W_{max}) und die in jedem einzelnen Versuch bei mehreren Temperaturen erhoben wurden.

Die Werte V_{max} und W_{max} verhielten sich folgendermaßen: $37° < 32° < 27° < = 32°$ C, d. h. bei Belastung auf der arteriellen oder der venösen Seite wurde unter Hypothermie eine höhere Leistungsreserve als bei normaler Körpertemperatur gefunden.

Das Minutenvolumen des unbelasteten Herzens war bei 32° C größer als bei 37° C und nahm bei 27° C und 22° C wiederum ab.

Literatur

Anrep, G. V., and H. Häusler: J. of Physiol. **69**, 298 (1929). — Berne, R. M.: Circulation Research **2**, 236 (1954). — Reissmann, K. R., and S. Kapoor: Amer. J. Physiol. **184**, 162 (1956). — Reissmann, K. R., and R. L. van Citters: J. of Appl. Physiol. **9**, 427 (1956).

H. Daweke und H. Giertz (Düsseldorf): Digitalis und Herzglykogen

Die Bemühungen, den Angriffspunkt und die Wirkungsweise der herzwirksamen Glykoside zu erfahren, haben seit langem dazu geführt, in einer Stoffwechselveränderung des Herzens, etwa in dem Verhalten des Glykogens, ein Äquivalent für die Leistungssteigerung nach Glykosiden zu suchen.

Erstmalig beobachteten Haendel und Munilla nach Digalen und Ouabain 1 Std nach der Injektion den Glykogengehalt von Hundeherzen erniedrigt. Andere Untersucher fanden nach Herzglykosiden eine Erhöhung bzw. eine Erniedrigung oder gar keine Veränderung des Herzglykogengehaltes. Ein Vergleich der Arbeiten ist fast unmöglich, weil verschiedene Versuchstiere, verschiedene Glykoside — auch Mischpräparate — und verschiedene Dosierungen benutzt wurden und der Untersuchungszeitpunkt nach der Injektion verschieden war.

Trotzdem ist man im allgemeinen, so auch Wollenberger, der Auffassung, daß die Glykogenvermehrung ein Zeichen therapeutischer Wirkung, die Glykogenverminderung ein Zeichen toxischer Wirkung der herzwirksamen Glykoside sei. Im Gegensatz dazu hatte Hahn schon 1939 an Tauben für Dosen über 50% der letalen Dosis eine Glykogenvermehrung von 50—100% in Herz und Leber gefunden. Im Anschluß an diese Versuche und zur Klärung der unterschiedlichen Ergebnisse der Literatur haben wir die Untersuchungen wieder aufgenommen.

Wir bestimmten den Glykogengehalt von Meerschweinchenherzen, zum Teil auch von Leber und Skeletmuskel, mit der Methode von Staudinger jr. nach Verabreichung von Digitoxin, wobei wir die Dosis und in einer zweiten Serie auch den Untersuchungszeitpunkt variierten. Die Glykogenbestimmung erfolgte polarimetrisch. Das Digitoxin wurden den Meerschweinchen in 5%iger alkoholischer Lösung intraperitoneal verabreicht.

Wir untersuchten zuerst den Glykogengehalt des Herzens 3 Std nach der Injektion bei toxischen Dosen von 0,4; 0,8 und 1,3 mg/kg. Die DL 50 für Meerschweinchen liegt bei intraperitonealer Injektion bei etwa 1,5 mg/kg. Die Untersuchung erfolgte jeweils an Gruppen von 6—20 Meerschweinchen definierten Gewichts und gleichen Geschlechts, von denen die Hälfte jeweils als Kontrollen eine Lösung von 5-, bzw. 2,5%igem Alkohol erhielten.

In Übereinstimmung mit den Untersuchungen von Hahn an Tauben ergibt sich für toxische Dosen eine Vermehrung des Glykogengehaltes, die bei der Dosis von 0,4 mg/kg plus 36% beträgt. Die Unterschiede gegenüber den Kontrollen sind signifikant mit einem P von $< 0{,}01$ bzw. 0,01. Die Glykogenvermehrung des Herzens nimmt mit steigender Dosis nicht zu.

Wir senkten dann die Dosis des Digitoxins auf 0,1 mg/kg; auf die Verhältnisse beim Menschen umgerechnet, entspricht dies etwa einer therapeutischen Dosis. Das Ergebnis ist eine Glykogenverminderung von 16%, die durch eine große Versuchsserie gegenüber den Kontrollen

signifikant gesichert ist. Zwischen der therapeutischen und der toxischen Dosis verändert sich also der Glykogengehalt des Herzens um mehr als 50%.

Die große Anzahl der Versuche, auch der Kontrollen (330 Meerschweinchen), war nötig, weil der Glykogengehalt des Herzens schon normalerweise zwischen 200 und 600 mg-% schwankt, wobei von einzelnen Extremwerten abgesehen ist.

Bereits im Winter 1956/57 wurden in einer Versuchsserie von 185 Meerschweinchen, deren Tiermaterial leider etwas heterogen war, für die verschiedenen Dosen grundsätzlich die gleichen Ergebnisse erzielt, wenn auch die prozentualen Änderungen der Mittelwerte des Glykogengehaltes noch um das doppelte höher lagen, so daß zwischen der toxischen und der therapeutischen Dosis eine Änderung des Glykogengehaltes des Herzens von mehr als 100% vorlag. In dieser Versuchsserie variierten wir weiterhin den Untersuchungszeitpunkt, wobei wir fanden, daß die Veränderungen des Glykogengehaltes 1 Std nach der Injektion noch nicht nachweisbar sind. Bei den toxischen Dosen war die Glykogenvermehrung noch nach 6 und 16 Std vorhanden.

Es tauchte nun die Frage auf, ob diese Änderungen des Glykogengehaltes nach Digitoxin allgemein in der quergestreiften Muskulatur auftreten, oder ob diese Veränderungen für den Herzmuskel spezifisch sind und somit mit der spezifischen Wirkung des Digitoxins auf das Herz in Verbindung gebracht werden können. Wir untersuchten daher mit der gleichen Methode den Glykogengehalt des Skeletmuskels an 146 Meerschweinchen; bei den gleichen Dosen von 0,1; 0,4 und 0,8 mg/kg Digitoxin fanden sich keine faßbaren Veränderungen. Bei der toxischen Dosis von 1,3 mg/kg ergab sich eine Glykogenverminderung von 18%, ein Unterschied gegenüber den Kontrollen, der mit einem P von $< 0{,}01$ signifikant ist.

Auch beim Skeletmuskel tritt also eine Erniedrigung des Glykogengehaltes ein, allerdings erst bei einer für das Herz toxischen Dosis, so daß sich auch hier die höhere Empfindlichkeit des Herzmuskels gegenüber Digitoxin zeigt.

Ein Einfluß von Digitoxin auf das Leberglykogen von Meerschweinchen ließ sich bisher nicht aufzeigen, weil trotz genormter und konstanter Ernährungsbedingungen der Glykogengehalt der Leber so stark schwankt, daß Veränderungen in der Größenordnung von 20—30% bei einer Serie von 150 Tieren nicht festgestellt werden können.

Am normalen Tier erniedrigen demnach therapeutische Dosen von Digitoxin den Glykogengehalt des Herzens, toxische erhöhen ihn. Die Ergebnisse sind also genau umgekehrt, wie man aus den bisher vorliegenden Untersuchungen glaubte schließen zu können. Für das Muskelglykogen ergibt sich bei toxischen Dosen, die nahe an die DL 50 heranreichen, eine signifikante Glykogenverminderung.

Die Glykogenverminderung bei therapeutischen Dosen kann man dahingehend deuten, daß man sie als eine Mobilisation von Energiereserven auffaßt. Toxische Dosen würden dann diesen Vorgang lähmen, und zwar schon bei geringer Dosissteigerung.

Wie sich der Glykogengehalt unter Digitoxin beim geschädigten Herzen verhält, müssen weitere Untersuchungen zeigen.

K. Repke (Berlin-Buch): Über den Stoffwechsel des Digitoxins bei der Ratte

Bei Anwendung der bei den Steroidhormonen erprobten Isolierungsverfahren und bei Benutzung neuerer, colorimetrischer Bestimmungsmethoden erwiesen sich rein chemische Mittel als ausreichend, den Stoffwechsel des Digitoxins bei der Ratte zu untersuchen. Die Bestimmung der Digitoxin-Konzentration in den verschiedensten Organen ergab, daß nicht das Herz, sondern die Nebenniere eine hervorragende Affinität zum Digitoxin besaß. Aus Bilanzuntersuchungen ging hervor, daß sich 12 Std nach der Injektion ein nicht unbeträchtlicher Anteil des eingespritzten Digitoxins dem Nachweis entzog. Vermutlich handelte es sich dabei um einen Abbau zu noch unbekannten Metaboliten, welche sowohl mit einer Digitoxose- wie mit einer Butenolid-Methode nicht mehr erfaßbar waren.

H. W. Raudonat und R. Engler (Frankfurt a. M.): Ausscheidungsprodukte des k-Strophanthin-γ und des Thevetins nach oraler Verabfolgung bei Ratten

Weißen Ratten wurde k-Strophanthin-γ (Strophanthosid) bzw. Thevetin — in Wasser gelöst — oral verabfolgt. Die Tiere erhielten innerhalb von 24—48 Std, auf 5 Einzeldosen verteilt, insgesamt 5 bis 10 mg pro 100 g. 4 Std nach der letzten Fütterung wurden sie getötet, und einerseits der während der Versuchszeit aufgefangene Harn, andererseits der Kot, zusammen mit dem Darminhalt, aufgearbeitet.

Die *glucosefreien* Spaltstücke der Glykoside — *Cymarin* bzw. *Neriifolin* — sind chloroform- *und* alkohollöslich. Die *glucosehaltigen* Glykoside — *k-Strophanthin-γ und -β* sowie *Thevetin* und *Thevebiosid* — sind nicht löslich in *Chloroform*, wohl aber in *Alkohol*.

Der Harn wurde deshalb zuerst mit *Chloroform* ausgeschüttelt, der nach dem Abdampfen verbleibende Rückstand in einer kleinen Menge Chloroform gelöst und papierchromatographiert. Als Lösungsmittel bewährte sich ein Gemisch aus gleichen Teilen Xylol und Methyläthylketon, gesättigt mit Formamid.

Der *nach* der Chloroformextraktion verbleibende Rückstand wurde nach dem Eindampfen zur Trockene mit *Methanol* extrahiert, und die eingeengten und

vereinigten alkoholischen Extrakte ebenfalls papierchromatographisch untersucht. Dabei wurde als Lösungsmittel wassergesättigtes n-Butanol benutzt.

Die in Frage kommenden Steroide und ihre Spaltprodukte geben nach Besprayen mit alkoholischer Trichloressigsäure-Chloraminlösung und anschließendem Erhitzen auf 120° C eine gelbe Fluorezcenz im U.V.-Licht.

Nach oraler Verabfolgung von *k-Strophanthin-γ* findet sich im *Chloroformextrakt* des Harns ein Stoff, der seinem Rf-Wert nach bei der Rechromatographie dem Cymarin des Testchromatogramms entspricht. Außerdem läßt sich ein Stoff nachweisen, der in seinem Verhalten (Rf-Wert) weder mit Strophanthin-*γ* noch Strophanthin-*β*, auch nicht mit Strophanthidin übereinstimmt. Es kann deshalb nur vermutet werden, daß es ein *Metabolit* ist, bei dem der Geninanteil des Moleküls eine Änderung erfahren hat.

Prinzipiell gleiche Ergebnisse wurden bei Verfütterung von *Thevetin* erhalten. Im Chloroformextrakt des Harns ließ sich papierchromatographisch *Neriifolin* nachweisen, daneben wiederum ein weiterer Metabolit der bisher nicht identifiziert werden konnte, der aber sicher nicht mit Digitoxigenin identisch ist.

In den *alkoholischen* Harnextrakten, die die unveränderten Glykoside hätten enthalten können, ließ sich mit Steroidreagenzien kein Glykosid nachweisen.

Die entsprechenden Aufarbeitungen von *Darm* und *Kot* führten zu dem Ergebnis, daß die Chloroformextrakte ebenfalls *Cymarin* und *Neriifolin* enthielten, daneben wiederum den bisher nicht identifizierten Metaboliten. Nach *Thevetin*-Verfütterung fand sich noch ein zweiter Metabolit im Darmextrakt.

Die *quantitative* Bestimmung der mit Chloroform-Alkohol extrahierten Teile des Chromatogramms erfolgte im Falle des k-Strophanthins nach der Methode von Goldschmidt, Helmreich u. Koerber colorimetrisch gegen eine Cymarin- bzw. gegen eine Strophanthin-*γ*-Eichkurve. — *Thevetin* bzw. seine Spaltprodukte wurden nach einer Methode von Haack u. Mitarb. bestimmt.

Von dem verfütterten *k-Strophanthin-γ* erscheinen im Harn 2,7% als *Cymarin*, 1,4% als unbekannter Metabolit; in Darm und Kot 6,0% als Cymarin und 4,7% als unbekannter Metabolit. Von dem verabfolgten *Thevetin* wurden im Harn 0,9%, im Darm 2,6% als *Neriifolin* gefunden.

Aus den Versuchen geht somit hervor, daß wenigstens ein kleiner Teil der oral verabfolgten Glykoside *k-Strophanthin-γ* und *Thevetin* im Organismus unter Abspaltung der beiden Glucosemoleküle abgebaut werden. *Wo* diese Hydrolyse erfolgt, kann nicht gesagt werden. Inkubationsversuche mit *Leber*, *Darm*, *Pankreas* und *Skeletmuskulatur* haben bisher zu keinem positiven Ergebnis geführt. Es ist jedoch wahrscheinlich, daß die hydrolytische Abspaltung schon im Darm erfolgt

und in weit höherem Maße stattfindet, als den kleinen Mengen der nachgewiesenen Spaltstücke entsprechen würde. Das würde nämlich Ergebnisse noch nicht veröffentlichter Versuche erklären, die in unserem Institut von Greeff durchgeführt worden sind:

Die *subcutane* Injektion von k-Strophanthin-γ führt bei Ratten zu einer *akuten Kaliurie*, deren Maximum schon nach 2 Std erreicht ist. Bei der *oralen* Verabfolgung setzt die Kaliurie nach einer Latenzzeit von 4 Std ein und erreicht ihr Maximum erst nach 6 Std. Das glucosefreie Spaltstück — Cymarin — verursacht demgegenüber auch bei *oraler* Verabfolgung ohne Latenz Kaliurie, deren Maximum schon nach 2 Std erreicht ist.

Das Gleiche trifft für *Thevetin* und *Neriifolin* zu: beim Thevetin selbst wiederum die Latenz der kaliuretischen Wirkung, beim glucosefreien *Neriifolin* keine Wirkungslatenz, auch bei oraler Applikation.

Literatur

Goldschmidt, St., F. Helmreich u. B. Koerber: Z. physiol. Chem. **290**, 106 (1952). — Haack, E., F. Kaiser, M. Grube u. H. Spingler: Arzneimittel-Forsch. **6**, 176 (1956).

Diskussion. L. Lendle (Göttingen): Im Blut und Gewebe sind keine Digitalis-spaltenden Fermente vorhanden. Werden bei parenteraler Zufuhr und Ausschaltung der Glykosidausscheidung mit Galle in den Darm auch solche Spaltprodukte gefunden?

K. Repke (Berlin-Buch): Repke meint, daß der papierchromatographisch-fluorometrische Nachweis von Metaboliten der Herzglykoside infolge Anwesenheit zahlreicher fluorescierender Substanzen in Kot und Harn schwierig sein müsse und fragt daher den Vortragenden, ob er weitere Identitätsprüfungen für das Vorhandensein von zuckerärmeren Produkten aufgestellt hat. Zur Entstehung solcher Produkte führt Repke die Arbeiten von v. Brücke und Švec an, wonach die Salzsäurekonzentration des Magens zum Abbau gewisser Herzglykoside ausreichend sein soll.

Auf die Ausführungen von Prof. Holtz hin bestätigt Repke, daß auch er bei Inkubation von Digitoxin mit den Homogenaten oder partikulären Elementen verschiedenster Organe niemals eine Umsetzung des Glykosides erhalten konnte und äußert die Vermutung, daß die Darmbakterien für den Stoffwechsel der Herzglykoside von entscheidender Bedeutung sein könnten.

K. Zeile (Ingelheim): Unter Hinweis auf die Existenz von zwei Thevetinkomponenten wird festgestellt, daß die Natur des Aglukons noch nicht gesichert ist. Neriifolin ist toxischer als Thevetin und zeigt stärkere laxierende Wirkung. Es scheint möglich, daß gewisse therapeutisch unerwünschte Wirkungen, die nach Thevetingaben beobachtet werden, dem durch Abbau entstandenen Neriifolin zuzuschreiben sind.

A. Engelhardt (Ingelheim): Beim Thevetin dissoziieren Herzwirkung und letale Wirkung. Nur die erstere ist flüchtig und schnell reversibel. Diese Erscheinung steht im Einklang mit dem vom Vortragenden gefundenen Abbau von Thevetin zu Neriifolin, welches toxischer ist und länger haftet als Thevetin.

M. Kramer (Mailand): Gegen die Annahme, daß die Ursache der Herzwirkung des Thevetins auf einer Glucoseabspaltung und dadurch auf der Entstehung des Neriifolins beruht, spricht der außerordentlich schnelle Wirkungseintritt und die kurze Wirkungsdauer der positiv inotropen Wirkung des Glykosids.

Schlußwort P. Holtz (Frankfurt a. M.) zu Repke: Es wurde natürlich zur Kontrolle Harn und Darm sowie Darminhalt von Normalratten in gleicher Weise aufgearbeitet und papierchromatographisch untersucht wie von solchen Tieren, die Strophanthin oder Thevetin erhalten hatten.

Zu Zeile: Zwischen dem von uns benutzten Thevetin und demjenigen der Firma Boehringer, Ingelheim, kann kein großer Unterschied bestehen, da es von uns aus Ingelheim bezogen wurde.

M. Reiter (München): Kalium- und Natriumgehalt des isolierten Herzmuskels in Abhängigkeit von der äußeren Calciumkonzentration

Es besteht eine strenge Abhängigkeit der Kontraktionskraft des Herzmuskels von der Konzentration der Calciumionen des Suspensionsmediums im Bereich unterhalb der physiologischen Konzentration. Bei Erhöhung der Ca^{++} von 0,8 mM/l auf 3,2 mM/l ist das Maximum der Kontraktionskraftzunahme von über 300% bei Herzstreifen der Ratte schon nach 5 min erreicht. Diese rasche Entwicklung des Calciumeffektes spricht für die Annahme, daß Calciumionen über eine Einwirkung auf die Zellmembran positiv inotrop wirken und nicht durch intracelluläre Wirkung am kontraktilen Protein.

Um einen Einblick in die Membranwirkung des Calciums zu erhalten, untersuchten wir eine spezifische Membranfunktion, die Rückresorption von Kalium und die Elimination von Natrium, bei verschiedenen äußeren Calciumkonzentrationen. Es zeigte sich, daß Herzstreifen der Ratte, die durch Abkühlung Kalium verloren und Natrium aufgenommen hatten, nach Inkubation bei 37° C in calciumfreier Lösung kein Kalium rückresorbierten und Natrium noch weiterhin aufnahmen. Bei 0,8 mM/l Ca in der Außenlösung hatten die Muskeln nach 15 min in geringem Maße Kalium aufgenommen, nach 30 min ihren Kaliumbestand aber bis unter den Ausgangswert verringert. Der Natriumgehalt der Muskeln stieg langsamer an als in calciumfreier Lösung, deren 15 min-Wert nach 30 min erreicht wurde. Erst bei 3,2 mM/l Ca in der Suspensionslösung stieg die Kaliumkonzentration des Muskels in verwertbarem Ausmaß an und wurde über einen längeren Zeitraum konstant gehalten. Der Na-Gehalt des Muskels nahm ab. Die Anwesenheit von Calciumionen in der Außenlösung in etwa physiologischer Konzentration ist demnach die Voraussetzung für die normale Konzentrationsarbeit der Membran (Resorption von Kalium und Elimination von Natrium).

Die Erhöhung der Calciumkonzentration um das 3fache, auf 9,6 mM/l, hatte keinen Einfluß auf die K-Rückresorption, wie sie bei 3,2 mM/l

Ca^{++} beobachtet wurde. Dagegen verringerte sich der Na-Gehalt des Muskels nicht, er nahm vielmehr zu, etwa in dem gleichen Maße, wie bei der niedrigen Ca-Konzentration von 0,8 mM/l. Die Differenz der Natriumwerte nach halbstündiger Inkubation bei 3,2 und 9,6 mM/l Ca ist signifikant. Es hat den Anschein, daß die Natriumelimination durch höhere Calciumkonzentrationen gehemmt wird.

Da der mittlere Wassergehalt der 3 Muskelgruppen nach halbstündiger Inkubation (dem Zeitpunkt der größten Differenzen im Na- und K-Gehalt) gleich war, ist es unwahrscheinlich, daß die verschiedenen Calciumkonzentrationen den prozentualen Anteil des Intercellulärraumes wesentlich beeinflussen. Es erscheint daher gerechtfertigt, den Intercellulärraum als konstant anzunehmen und die beobachteten Änderungen im Na- und K-Gehalt des Muskels als Änderungen der intracellulären Konzentration zu werten.

Diskussion. L. Lendle (Göttingen): Versuche an Meerschweinchenherzen würden, wenn die gleichen Veränderungen des Ionenaustausches in geringeren Konzentrationen von Strophanthin erzielt werden, die Spezifität der Membranwirkung beweisen.

H. F. Zipf (Berlin-Dahlem): Die Erhöhung der intracellulären Na-Konzentration nach Erhöhung der Ca-Konzentration über den physiologischen Bereich hinaus widerspricht dem Reaktionsschema der Na^{+}-Überträger von Weidmann (1955). Wirkt Ca^{++} auf einem zweiten Wege entgegengesetzt?

O. Eichler (Heidelberg): Erstreckt sich die Wirkung des Ca auf eine physikochemische Membran oder handelt es sich um die Wirkung auf den physiologischen Prozeß der Na-Pumpe? Meist sind diese Prozesse empfindlicher als physikochemische Modelle einer Membran. Solche gibt es im Organismus wahrscheinlich nur sehr selten.

H. Göing (Goslar): Die verhütende Wirkung des Ca auf den verstärkten Eintritt von Na in die Zelle konnten wir auch für die Aconitinwirkung am Herzen bestätigen. Bei der hier im wesentlichen sichtbaren Veränderung des Na muß berücksichtigt werden, daß der Rücktransport des stärker hydratisierten Na längere Zeit in Anspruch nimmt als die des K, wenn experimentell stärkere Ionenverschiebungen verursacht wurden.

W. Wilbrandt (Bonn): 1. Wurde der extracelluläre Raum in den Versuchen bestimmt? Kleine Änderungen des extracellulären Raumes können wegen der hohen Natriumkonzentration außen die Natriumwerte stark beeinflussen.

2. Am Erythrocyten wirkt Calcium (im Gegensatz zu Digitalis) nicht auf die Natriumpumpe.

W. Rummel (Düsseldorf): Spielt die Ca/K-Relation die entscheidende Rolle oder die absolute Ca-Konzentration? — Eigene Versuche am Rattenzwerchfell deuten darauf hin, daß das Ca/K-Verhältnis den Austritt von Kalium aus dem Muskel beeinflußt. Eine quantitative Beziehung zu den gleichzeitig auftretenden Änderungen des Membranpotentials fehlt, so daß eine unmittelbare Änderung der Membrandurchlässigkeit angenommen werden muß[1].

[1] Pflügers Arch. **260**, 154 (1954).

Schlußwort M. Reiter: Ob Calciumionen neben der postulierten Hemmung der Natriumpermeabilität noch über einen anderen Mechanismus an der Membran wirken, läßt sich nicht mit Sicherheit sagen.

Die beobachteten Änderungen im Na-Gehalt der Muskeln durch eine Änderung des Intercellulärraumes zu erklären, würde große Schwierigkeiten bereiten. Die dafür notwendige Zunahme des Intercellulärraumes müßte 60% betragen. Abgesehen davon, daß es unwahrscheinlich ist, daß sich eine derartige Änderung nicht im Wassergehalt des Muskels ausdrückt, müßte sie durch eine Zellschrumpfung bedingt sein, die dann gleichermaßen bei fehlendem Calcium, bei niedriger und hoher Ca-Konzentration auftreten müßte. Außerdem hieße dies, daß der starke Kaliumverlust bei abwesendem Calcium ohne eine entsprechende Na-Zunahme erfolgen würde.

Die Wirkung inotroper Strophantinkonzentrationen an der Membran der Muskelzelle ist ganz anders als die der Calciumionen. Durch Strophanthin werden die Kaliumrückresorption und die Kalium-Abgabe gehemmt[1], während die Calciumionen in physiologischer Konzentration die Kaliumrückresorption und die Natriumelimination erst ermöglichen.

K. Pfleger, H. Jacobi und W. Rummel (Düsseldorf): Glucose- und Phosphatresorption am isolierten Darm

Es gibt augenblicklich 2 Anschauungen über die Phosphatresorption. Auf der einen Seite wird angenommen, daß Phosphatdurchtritt und Zuckertransport irgendwie miteinander in Verbindung stehen, auf der anderen Seite stehen Versuche, die besagen, daß es sich um einen Diffusionsvorgang handelt. Um zur Klärung dieser Frage beizutragen, haben wir beide Vorgänge unter verschiedenen Temperaturen, unter 2,4-Dinitrophenol und unter anaeroben Bedingungen am isolierten Meerschweinchendarm nach Fischer und Parson untersucht.

Um die Temperaturabhängigkeit der Glucoseresorption zu prüfen, haben wir an Darmabschnitten des gleichen Tieres die bei 27°, 34° und 37° nach außen durchgetretene Glucosemenge bestimmt. Man erhält einen Kurvenverlauf, der etwa der RGT-Regel gehorcht, wie es auch bei Zugrundeliegen eines fermentativ gesteuerten Prozesses zu erwarten ist. Der Q_{10} zwischen 27° und 37° beträgt 3. Bei 37° werden 0,35 μMol Glucose pro Milligramm Trockengewicht und Stunde von der Mucosa- zur Serosaseite transportiert. Dieser Transport kommt unter anaeroben Bedingungen nahezu völlig zum Stillstand. Unter DNP läßt sich überhaupt keine transportierte Glucose mehr nachweisen.

Bestimmt man nun mit Hilfe von P^{32}-Phosphat unter denselben Bedingungen den Phosphattransport durch die Darmwand, dann zeigt sich bei oxydativen Bedingungen eine stärkere Temperaturabhängigkeit als für die Glucoseresorption. Der Q_{10} beträgt hier 5. Überraschend war aber nun, daß der Phosphattransport unter anoxydativen Bedingungen

[1] Siehe diese Ztschr. **227**, 300—315 (1956).

und DNP, unter denen die Glucoseresorption zum Stillstand gekommen war, auf das 3fache ansteigt. Die Temperaturabhängigkeit des Phosphattransportes ist unter anoxydativen Bedingungen besonders auffällig. Sie folgt nicht der RGT-Regel. Bei 37° tritt kaum mehr Phosphat durch die Darmwand hindurch als bei 34°. Einen ähnlichen Kurvenverlauf haben wir aber auch für die Glykolyse gefunden. Der Kurvenverlauf der Milchsäurebildung und des Phosphattransportes deckt sich. Dies läßt natürlich daran denken, daß Glykolyse und Phosphatresorption miteinander gekoppelt sind. Ein Beispiel hierfür ist bekannt. Der kernlose Erythrocyt betreibt seinen Phosphattransport mit der Glykolyse.

Es bleibt noch zu beweisen, daß es sich auch unter anaeroben Bedingungen um einen aktiven Transport handelt. Die hohe Temperaturabhängigkeit sprach schon dafür. Wir versuchten noch nachzuweisen, daß es sich um einen gerichteten Transport handelt. Es tritt in Richtung Mucosa zur Serosa unter allen Bedingungen etwa 3mal soviel Phosphat hindurch als in umgekehrter Richtung. Unter allen Bedingungen hatte die Darmwand selbst etwa gleichviel P^{32} aufgenommen. Der P^{32}-Gehalt der Darmwand selbst war somit von der Durchtrittsrate unabhängig. Der Durchtritt von Rhodanid, das unter denselben Bedingungen erwartungsgemäß einen Q_{10} von ungefähr 1,5 hat, erhöht sich nicht unter anoxydativen Bedingungen und DNP.

Zusammenfassung

Glucose- und Phosphattransport sind voneinander unabhängig: 1. Weil die Temperaturabhängigkeit verschieden ist. 2. Weil unter anoxydativen Bedingungen und DNP, unter denen die Glucoseresorption stillsteht, der Phosphattransport mehrfach ansteigt. Beide Vorgänge hängen also von verschiedenen enzymatischen Prozessen ab.

In Gegenwart von DNP allerdings erreicht der Phosphattransport auch unter oxydativen Bedingungen — die Atmung ist unter DNP um 30% erhöht — das gleiche Ausmaß wie unter anoxydativen. Da auch unter DNP die Glykolyse erheblich gesteigert ist, scheint der Phosphattransport vorwiegend mit der Glykolyse gekoppelt zu sein.

Diskussion. V. Klingmüller (Hamburg): Die in vitro-Versuche mit isolierten Darmschlingen können nach unseren Erfahrungen mit starken Schädigungen einhergehen. Darum möchte ich den Vortragenden fragen, ob die Schleimhaut histologisch überprüft wurde, wie lange die Versuche ausgedehnt werden konnten und wie lange die peristaltischen Bewegungen erhalten blieben.

Schlußwort K. Pfleger: Unsere Versuchsdauer betrug 2 Std. Histologische Kontrollen wurden durchgeführt. Hinsichtlich der Überlebsdauer von Magenschleim-haut möchten wir auf C. Luttwak-Mann u. A. M. Baret Biochemic. J. **40**, V—VI (1946) hinweisen.

H. Friebel und R. Mappes (Bonn): Gaswechselmessung im Arbeitsversuch bei Ratten

Die Gaswechselmessung im Arbeitsversuch wird durchgeführt, um die Leistungsfähigkeit der am Gastransport beteiligten Organe, im wesentlichen also des cardiopulmonalen Systems, zu prüfen. Wir haben eine Methode entwickelt, mit der man diese Untersuchung an Ratten durchführen kann.

Im Arbeitskäfig läuft die Ratte auf einem endlosen Band, das von einem Elektromotor bewegt und dessen Geschwindigkeit mit Hilfe eines Vorwiderstandes und Tachometers reguliert wird. Ein auf gleicher Ebene gelegenes Metallgitter gibt dem Tier einerseits eine Rückzugsmöglichkeit, kann aber bei Bedarf auch mit Hilfe eines Reizgerätes aufgeladen werden. Die Analyse des den Käfig durchströmenden Gases wird nach dem Prinzip der Wärmeleitfähigkeitsmessung im Diaferometer der Fa. Kipp durchgeführt. Die Ratten gewöhnen sich in 3 Vorversuchen von 3—5 min Dauer an das Laufen auf dem Band; etwa 10—15% der Tiere erlernen es nicht. Die Gasstoffwechselmessung wird nur im Hauptversuch vorgenommen. Hierbei bleibt das Gitter ungeladen, damit Angstreaktionen möglichst vermieden werden.

Der zeitliche Ablauf der O_2-Aufnahme während der Arbeit und Erholung wird in Kurvenform aufgezeichnet (Ordinate: O_2-Aufnahme in Kubikmillimeter/Quadratzentimeter/Minute, Abszisse: Ablesezeit in Minuten). Arbeitsbeginn bei 0, Arbeitsende nach der 6. min.

Vergleicht man Mittelwerte von je 10 Tieren, die 30 bzw. 25 m/min zurückgelegt haben, so findet man trotz erheblicher Streuung der Einzelwerte die Mittelwerte statistisch different. Es ist also möglich, einen Zusammenhang zwischen Arbeits-O_2-Aufnahme und Laufleistung nachzuweisen.

Den Abweichungen zwischen Gaswechselwerten verschiedener Individuen eines Kollektivs steht die relativ gleichbleibende O_2-Aufnahme des Einzeltieres bei aufeinanderfolgenden Versuchen gegenüber. Unterschiede in der O_2-Aufnahme bei gleichbleibender Laufleistung können auf unterschiedliche Arbeitsökonomie und psychische Faktoren zurückgeführt werden; ihre Auswirkungen sind aber begrenzt.

Wir untersuchten an verschiedenen Krankheitsmodellen, der experimentellen Silikose, multipler Lungenembolie und hochgradigem Oleothorax, ob man mit dieser Methode cardiopulmonale Insuffizienz nachweisen kann.

Nach den Erfahrungen der Spiroergometrie war zu erwarten, daß Tiere mit derartigen Schädigungen während der Arbeitsphase eine vermehrte O_2-Schuld eingehen, die in der Erholungsphase abgegolten wird. — Da aber die O_2-Schuld bei der Ratte nicht bestimmbar ist, mußte ein neuer Begriff eingeführt werden, der eine Beziehung zwischen dem O_2-Verbrauch der Erholungsphase (2. min nach Arbeitsende) und dem der Arbeitsphase (letzte Arbeitsminute) herstellt. Diesen Prozentwert bezeichneten wir als „relative O_2-Aufnahme".

Bei Ratten mit fortgeschrittener Silikose fanden wir regelmäßig eine erhöhte „relative O_2-Aufnahme", wenn gleichzeitig sichtbar herabgesetzte Leistungsfähigkeit und Dyspnoe nach Arbeit vorhanden waren. Wurde nach der Arbeit nur Tachypnoe oder gar Normalatmung beobachtet, so war die „relative O_2-Aufnahme" nicht erhöht. Demnach bestand zwischen dem Ergebnis der Gaswechselmessung und dem visuell erkennbaren Krankheitszustand Übereinstimmung. Dasselbe Ergebnis wurde bei Tieren mit hochgradigem Oleothorax erhalten. Bei Ratten mit experimenteller Lungenembolie nach Quecksilberinjektion fanden wir 1. eine erhebliche Einschränkung der absoluten O_2-Aufnahme in beiden Versuchsphasen und 2. eine in der Mehrzahl erhöhte „relative O_2-Aufnahme". Als Erklärung für die insgesamt geringere O_2-Aufnahme nach Eintritt der Embolie können 3 Ursachen genannt werden: 1. eine Grundumsatzsenkung, die wir bei den meisten Tieren fanden, 2. das Bestreben der kranken Tiere, ihre Muskulatur möglichst wenig zu betätigen, 3. ein schon in Ruhe bestehendes O_2-Defizit, wofür auch Ruhedyspnoe und Cyanose sprachen. Trotz dieser Komplizierung ergab sich auch hier bei der Mehrzahl der Tiere eine Übereinstimmung zwischen dem Ergebnis der Gaswechselmessung, dem visuellen Eindruck und dem bei der Sektion festgestellten Schweregrad der Lungenschädigung.

Wir glauben daher, daß die Methode geeignet ist, Funktionseinschränkungen im kardiopulmonalen System zu objektivieren.

A. Hasselblatt und W. Bludau (Göttingen): Dosis-Wirkungsbeziehungen bei Dauerinfusionen von N-4-Methyl-benzol-sulfonyl-N-butylharnstoff („Rastinon", „Artosin") am Blutzucker des Kaninchens

Für die quantitative Untersuchung der Dosis-Wirkungsbeziehungen des Sulfonylharnstoffderivates „Rastinon" erscheint eine Dauerinfusion der einmaligen intravenösen Injektion überlegen. Durch den langsamen Anstieg der Rastinonkonzentration im Blut lassen sich blutzuckersteigernde Sekundärwirkungen vermeiden, wie sie besonders nach der intravenösen Gabe von hohen Dosen der peroral wirksamen Antidiabetica auftreten und die spezifische Reaktion der Blutzuckersenkung überlagern.

Nüchterne Kaninchen erhielten das Rastinon in einer Dosierung von 3, 6, 18, 36, 72, 144, 216 und 360 mg/kg/Std entsprechend einem Dosisverhältnis von 1:2:6:12:24:48:72:120. Der Blutzuckerabfall verläuft in einem Dosisbereich von 3—72 mg/kg/Std dosisabhängig. Als Maßstab für die Blutzuckerwirkung des Rastinon dient die Fläche, um die der Ausgangswert während der Infusion unterschritten wird. Als Dosis-Wirkungskurve des Rastinon ergibt sich bei logarithmischer Dosisskala

eine Gerade. Mit Hilfe der Dosis-Wirkungskurve wird die Blutzuckerwirkung von Dauerinfusionen mit Rastinon und mit Insulin direkt vergleichbar. Bei 2stündiger Infusionsdauer beträgt danach das Insulinäquivalent von 103 mg Rastinon 0,3 IE Altinsulin/Kilogramm.

Die Blutzuckersenkung nach Rastinon ist jedoch nur in einem begrenzten Dosisbereich mit der Insulinwirkung vergleichbar. Bei einer Steigerung der Rastinondosis auf Werte über 72 mg/kg/Std bleibt eine weitere Abnahme der Blutzuckerkonzentration aus. Für die Darstellung der Dosis-Wirkungs-Beziehungen sind daher höhere Dosen nicht zu verwerten. Der Blutzuckerabfall erreicht bei einer Dosis von 72 mg Rastinon Kilogramm/Stunde einen Grenzwert, der nur durch gleichzeitige Insulingaben unterschritten werden kann.

Im Gegensatz zum Insulin führt das Rastinon zu einer langsamen Abnahme der Blutzuckerkonzentration auf etwa 50%. des Ausgangswertes. Dieses Blutzuckerniveau wird über Stunden beibehalten und erweist sich gegenüber Glucosebelastungen oder Variationen der einlaufenden Rastinondosis überaus stabil.

Die Kumulationsfähigkeit des Rastinon wird bei der Dauerinfusion niedriger Dosen deutlich. Bei einer Infusionsdauer von 10 Std wurde eine Abnahme der Blutzuckerkonzentration auf 55% des Ausgangswertes durch 3 mg/kg/Std erreicht.

Bei Dosen über 500 mg/kg/Std kommt es zu unregelmäßigen hyper- und hypoglykämischen Blutzuckerschwankungen.

Nach einer Gesamtdosis von über 800 mg/kg/Std treten toxische Symptome auf. Sie sind unabhängig von der Blutzuckerkonzentration. Im Vordergrunde steht dabei eine schlaffe Lähmung der gesamten Körpermuskulatur. Dieses Zustandsbild wird durch einen „head-drop" eingeleitet. Die Tiere sterben in kurzdauerndem Streckkrampf.

H. F. Zipf (Berlin-West) und P. Reichertz (Bonn): Zur Auswertung von Endoanaesthetica durch Wirkung/Zeit-Kurven

Die Verfolgung der Lokalanaesthesie an Schleimhäuten und Nervenstämmen in Form von Wirkung/Zeit-Kurven gehört zu den gewohnten Methoden des Pharmakologen. Die Ausschaltung der inneren Sensibilität, die wir mit *Endoanaesthesie* bezeichneten, in der gleichen Weise zu erfassen, stößt auf erhebliche Schwierigkeiten. Es gibt die Methode, an Einzelfasern oder faserarmen Präparaten die Zahl der Aktionsimpulse fortlaufend zu registrieren. Sie ist sehr mühevoll und gewissen Zufälligkeiten ausgeliefert. Es besteht schließlich die Möglichkeit, durch Stichaufnahmen die wichtigsten Versuchspunkte festzuhalten. Solche Stichbilder sind für die genauere Analyse von großem Wert. Bei der langen Wirkungsdauer neuer Endoanaesthetica erwies es sich als großen

Fortschritt, den gesamten Wirkungsablauf durch ein *integrierendes Verfahren* zu raffen. Es wurde für die elektro-physiologische Ableitung der Dehnungsreceptorenimpulse der Lunge ausgearbeitet (Meerschweinchen, Kaninchen, Katzen, Hunde): Vom Verstärkerausgang leiteten wir über einen handelsüblichen Zwischenverstärker die spindelförmigen Impulsgruppen einem Ampèremeter vom Gleichrichtertyp zu, z. B. dem direkt schreibenden Strom- und Spannungsmesser der Fa. AEG. Sie wurden hier in beatmungssynchrone Zeigerausschläge umgewandelt. Es erfolgte also eine „Integration" durch Messung des jeweiligen Stromflusses. In der Exspirationspause ging der Zeigerausschlag auf einen Restausschlag zurück, der der Restaktivität der nicht völlig entleerten Lunge entsprach. Die Ausschläge registrierten wir auf Metallpapier während des gesamten Versuchsablaufes als „*Wischkurve*". Gleichzeitig konnten die Aktionsspindeln über einen *Lautsprecher* mitgehört werden. Eine weitere Möglichkeit besteht darin, die Aktionsspindeln auf *Tonband* aufzunehmen. Gleichzeitig oder nachträglich läßt sich ein Ampèremeter vom Gleichrichtertyp, z. B. das „Multavi 5" der Fa. Hartmann und Braun, an das Tonbandgerät anschließen, und die integrierenden Ampèremeterausschläge können fortlaufend abgelesen werden. Setzt man die inspiratorische Impulsentladung der Ausgangslage = 100%, so lassen sich die Änderungen während des Endoanaesthesieverlaufes in Prozenten der Ausgangslage ausdrücken. Auf diese Weise ist es möglich, *Wirkung/Zeit-Kurven aufzustellen.*

In einem einzigen Versuch können mehrere Stoffe vergleichend geprüft werden. Es werden Einzelaufnahmen, Wirkung/Zeit-Kurven und „Wischkurven" von vergleichenden Prüfungen der Endoanaesthetica Procain, Pantocain, Tessalon (CIBA) und Dodecyl-nona-äthylenoxydäther (Do 9/3) am Meerschweinchen vorgeführt, die die flüchtige Wirkung der 3 Ester gegenüber dem langwirkenden Do 9/3 kennzeichnen.

F. Herr (Marburg) und S. Balogh (Budapest): Prüfung des Diffusionsvermögens einiger Lokalanaesthetica

Bei Untersuchungen über die Wirkungsbedingungen von Lokalanaesthetica bei der Schleimhautanaesthesie wurden Procain, Cocain, Pantocain und Nupercain vergleichend geprüft: a) an der isolierten Katzencornea, b) an der isolierten Schleimhaut der Katzenblase, c) an der Katzencornea in vivo. Der Nachweis der Lokalanaesthetica geschah durch Ausschütteln der Base aus den Lösungen in Heptanlösung und spektrophotometrische Messung im UV-Bereich. Als kleinste Menge konnten noch 1—2 μg/ml gemessen werden.

Es wurde 1. die Geschwindigkeit des Eintritts in die Cornea und Blasenschleimhaut bestimmt. Procain und Cocain wurden bei allen Versuchen langsamer aufgenommen als Pantocain und Nupercain.

2. wurde an der isolierten Cornea die Permeation der Lokalanaesthetica beobachtet. Dabei wurde festgestellt, daß von Procain und Cocain, trotz ihrer geringeren Resorption, mehr durch die Cornea durchgedrungen war, als von Pantocain und Nupercain (Tab. 1). Die letzten beiden Substanzen haben also eine stärkere Haftfestigkeit im Gewebe und werden stärker in der Cornea angereichert, was auch durch Extraktionsversuche bestätigt wurde. Die Fähigkeit eines Lokalanaestheticums zur Schleimhautanaesthesie beruht demnach auf dem leichten Eindringen und der festen Bindung im Gewebe.

Tabelle 1. *Isolierte Katzen-Cornea in 1,5 ml 10^{-3} mol/l Lokalanaestheticum getaucht. Auf innere Seite der Cornea 0,6 ml physiologische Kochsalzlösung. 30 min 30° C p_H 7,4*

Lokalanaestheticum	Zahl der Experimente	Resorbierte Menge der Lokalanaesthetica		Durchgedrungene Menge der Lokalanaesthetica		Von resorbierter Menge ist durchgedrungen %
		10^{-3} Mol	µg	10^{-3} Mol	µg	
Procain	5	12,0 ± 1,34	32,6	2,4 ± 0,38	6,53	20
Cocain	5	16,8 ± 2,0	57,0	2,4 ± 0,4	8,15	14,3
Pantocain	4	21,6 ± 1,6	64,9	1,0 ± 0,1	3,03	4,68
Nupercain	5	32,4 ± 2,8	123,0	0,84 ± 0,06	3,2	2,6

Diskussion. L. Lendle (Göttingen): Die Befunde widerlegen eindeutig die falsche Vorstellung, daß Novocain nicht oberflächenanaesthetisch wirke, weil es nicht ins Gewebe eindringe. Novocain diffundiert zu schnell durch Schleimhäute. Daher wirkt es mit 10—20% auch anästhetisch, weil mit so hohem Gefälle genügende Konzentrationen in der Schleimhaut erreicht werden. Auch die Esterasen können das Novocain zu schnell abbauen. Kann man durch Eserin die Oberflächenanaesthesie verstärken?

W. Wirth (Wuppertal-Elberfeld): In organischen wasserlöslichen Lösungsmitteln, die vielfach in modernen Zubereitungsformen für Schleimhautanaesthesie in der Zahnheilkunde Anwendung finden, kann die Eindringungsgeschwindigkeit der Lokalanaesthetica wesentlich verändert, oft sogar gegenüber wäßrigen Lösungen verbessert sein. Der Vortragende wird nach seinen Erfahrungen in dieser Hinsicht gefragt.

J. Dörner, W. Flacke und C. R. Swaine (Boston): Zur Frage der Beteiligung atropinunempfindlicher Vasodilatatoren bei der neurogenen Gefäßdilatation nach Adrenalin und Noradrenalin

Adrenalin und Noradrenalin bewirken auf nervalem Wege eine Dilatation der Sekeletmuskelgefäße. Diese Dilatation ist unabhängig von der Blutdruckwirkung und kommt nicht über eine zentrale oder über die

Depressornerven gehende reflektorische Wirkung zustande. Sie wird durch Atropin nicht beeinflußt.

Die Frage ist: liegt der Dilatation ursächlich eine Senkung des Vasokonstriktorentonus zugrunde oder sind atropinunempfindliche vasodilatatorische Nerven am Zustandekommen der Dilatation beteiligt?

Zur Prüfung der Frage wurden am gekreuzten Kreislauf von Hunden 14 Versuche mit Dibenamin durchgeführt. Die Hinterextremität wurde von einem Spenderhund durchströmt, der Kollateralkreislauf unterbunden, die Durchblutung mit Shipley-Rotameter und der arterielle Druck mit Statham-Elementen gemessen. Noradrenalin (0,5 γ/kg und mehr) wurde i.v. in den Versuchshund injiziert, Dibenamin meist i.a. in die durchströmte Extremität, selten i.v. in den Spenderhund infundiert. Die Versuche führten zu folgenden Ergebnissen:

Die Gefäßdilatation in dem durchströmten Bein nach i.v. Injektion von Noradrenalin war in 9 Versuchen auch nach Vorbehandlung mit Dibenamin in einer Dosierung, die genügte, die konstriktorische Noradrenalinwirkung (1 γ/kg i.a.) vollständig zu blockieren, noch vorhanden. Die Stärke dieser Noradrenalin-bedingten Gefäßdilatation, gemessen an der Durchblutungszunahme, nahm notwendigerweise nach Dibenamin wegen des stark herabgesetzten peripheren Gefäßwiderstandes ab. Bei Vergleich mit der Durchblutungszunahme nach i. a. Injektion von Acetylcholin ergab sich, daß die Noradrenalinmehrdurchblutung im Mittel nicht stärker abgeschwächt war als die Mehrdurchblutung nach Acetylcholininjektion. Der periphere Gefäßwiderstand in dem durchströmten Bein wurde vor und nach Dibenamin durch die Noradrenalininjektion im Durchschnitt auf gleiche Werte gesenkt. Die Gefäßdilatation nach Noradrenalin konnte noch vorhanden sein, während anschließende Durchschneidung oder Kühlung (bis unter 0°) der Hinterextremitätennerven zu keiner oder einer geringeren Mehrdurchblutung führte.

In 5 Versuchen war in dem durchströmten Bein nach längerer Dibenamineinwirkung durch i.v. Noradrenalininjektionen keine Gefäßdilatation mehr auszulösen. In 3 von diesen 5 Versuchen war die noradrenalinbedingte Durchblutungszunahme vor Dibenamin schon sehr gering. In 2 Versuchen war mit der Noradrenalindilatation auch die Dilatation nach i.a. Injektion entsprechender Dosen Acetylcholin aufgehoben, während in 2 weiteren Versuchen die Mehrdurchblutung nach Acetylcholin nur noch wenige cm^3/min betrug.

Die Ergebnisse sprechen stark dafür, daß die in den Skeletmuskelgefäßen auftretende Dilatation nach i.v. Injektion von Noradrenalin (und Adrenalin) nicht durch eine Hemmung des Sympathikotonus, sondern über atropinunempfindliche Vasodilatatoren zustande kommt. Der Beweis dafür wird an einen direkten Nachweis der dabei beteiligten Überträgersubstanz gebunden sein.

Weitere 26 Versuche unter Verwendung von Cocain, Tetraäthylammonium und Curare, ebenfalls zum großen Teil am gekreuzten Kreislauf durchgeführt, ergaben keine im Sinne der Fragestellung verwertbaren Ergebnisse.

V. Görisch (Leipzig): Zur Deutung einer „paradoxen" Atropinwirkung

Wie Lüllmann, Förster u. Westermann zeigen konnten, vermag Atropinsulfat unter bestimmten Bedingungen die Acetylcholinkontraktion des Blutegelrückenmuskels zu verstärken. Eine Muskelverkürzung tritt aber auch auf, wenn Atropin allein oder auf der Höhe der durch Acetylcholin, Cholin, Carbaminoylcholin, Succinylbischolin und Dekamethonium hervorgerufenen Kontraktionen zugesetzt wird. Diese Effekte sind an vollständig eserinisierten Präparaten besonders häufig zu beobachten. Die „paradoxe" Atropinwirkung kann daher nicht mit der Cholinesterasehemmung allein erklärt werden.

Nach Atropingabe kam es manchmal zu Spontankontraktionen, wie sie auch nach Anwendung von Netzmitteln auftreten können. Daher wurden einige oberflächenaktive Substanzen, vor allem Natriumdecylsulfonat und Natriumdehydrocholat in die Untersuchungen einbezogen. Sie riefen die gleichen Verstärkungseffekte mit annähernd gleicher Häufigkeit wie Atropin hervor, obwohl ihre mit der Ringabreißmethode gemessene Aktivität an Grenzflächen zwischen wäßrigen Lösungen und Luft wesentlich größer war. Die Fähigkeit, das polarographisch bestimmte Sauerstoffmaximum einer luftgesättigten Kaliumchloridlösung zu dämpfen, ließ zwar keine eindeutigen Beziehungen zur kontraktionsverstärkenden Wirkung dieser Substanzen erkennen, die große Ähnlichkeit der wirksamen Konzentrationen fiel jedoch auf. Der „paradoxe" Atropineffekt kann also auf keinen einheitlichen Angriffspunkt zurückgeführt werden. Von erheblicher Bedeutung dürften jedoch die physikochemischen Eigenschaften des Atropins an Grenzflächen zwischen flüssigen, halbflüssigen und festen Phasen sein, unabhängig von seiner chemischen Struktur und den daran gebundenen Wirkungen auf spezifische Receptoren.

Literatur

Lüllmann, H., W. Förster u. E. Westermann: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **215**, 8 (1952).

Diskussion. H. F. Zipf (München): Paradoxe Atropinwirkungen im Sinne von Tonusanstieg und Kontraktion können am quergestreiften isolierten Muskel bei geringer p_H-Verschiebung nach der alkalischen Seite auftreten.

Schlußwort V. Görisch: Der Einfluß der Wasserstoffionenkonzentration wurde berücksichtigt. Die Lösungen sind vor jedem Versuch mit Glaselektrode oder Lyphanpapier auf p_H 7,2 eingestellt worden.

W. Schaumann (Frankfurt a. M.): Unwirksamkeit von Ganglienblockern gegenüber einzelnen Wirkungen peripherer Vagusreizung

Blutdrucksenkung, Bronchokonstriktion sowie Kontraktionen von Magen und Darm nach Reizung des peripheren Vagusstumpfes lassen sich in der Regel durch Ganglienblocker verhindern, da die Umschaltstellen der efferenten parasympathischen Fasern in den Organen selbst gelegen sind. Beim Meerschweinchen wird jedoch die Bronchokonstriktion nach Vagusreiz durch Ganglienblocker nicht beeinflußt, und bei der Katze treten Kontraktionen des Magens nach Hexamethonium oder Pendiomid zwar verzögert auf, können aber ebenfalls durch Ganglienblocker nicht aufgehoben werden. Bronchokonstriktion bzw. Magenkontraktionen werden durch Eserin verstärkt und durch Atropin aufgehoben, kommen also sicher durch eine Erregung cholinerger Nervenfasern zustande.

Diskussion. O. Kraupp (Wien): An der narkotisierten Katze bewirken C_6 sowie eine Reihe anderer ganglienblockierender Substanzen in der Regel eine Steigerung von Tonus und Motilität der in situ befindlichen Darmmuskulatur. Dies wird durch den Wegfall der normalerweise stark überwiegenden hemmenden sympathischen Impulse erklärt. Eine dadurch bewirkte Übererregbarkeit der Darmmuskulatur z. B. gegenüber postganglionären parasympathischen Impulsen könnte auch bei weitgehender Herabsetzung der Erregungsüberleitung in den parasympathischen Schaltganglien eine erfolgreiche präganglionäre Reizung ermöglichen und so eine Unwirksamkeit des Ganglienblockers vortäuschen.

W. Vogt (Göttingen): Wie wirkt sich eine Änderung der Dosis der benutzten Ganglienblocker aus? Meines Wissens ist beobachtet worden (Wilson, 1953?), daß kleine Dosen von C_6 den Effekt der Vagusreizung auf die Magenmuskulatur blokkierten, wo hingegen er nach höheren Dosen wiederkam.

Schwarzacher (Basel): Botar hat im N. Vagus verschiedener Tiere eine große Menge multipolarer Ganglienzellen gefunden, die über den Nerven vom Ganglion nodosum bis in den Thoraxbereich verteilt sind. Die Reizung postganglionärer Fasern ist daher durchaus möglich.

F. Brücke (Wien): Die Methode von Konzett u. Rössler mißt die Bronchuskontraktion nur indirekt. Sind Kontrollen darüber ausgeführt worden, ob nicht eine veränderte Blutfüllung der Lunge die Kontraktion vortäuscht?

Schlußwort W. Schaumann zu Brücke: In Versuchen an der isolierten Lunge konnte nachgewiesen werden, daß Vagusreiz beim Meerschweinchen eine echte Bronchokonstriktion auslöst.

Zu Vogt: Auch kleine Dosen von Ganglienblockern waren unwirksam.

Zu Kraupp: In den vorliegenden Untersuchungen waren die Vagi durchtrennt, und es trat bei Gabe von Ganglienblockern an der Katze keine Zunahme des Tonus auf.

Zu Schwarzacher: Durch Reizung des Vagus oberhalb des Ganglion nodosum konnte ausgeschlossen werden, daß Ganglienzellen im Halsvagus eine Rolle spielen.

K. Nádor (Budapest): Hochaktive ganglionblockierende Tropiniumverbindungen

Wir hatten bewiesen, daß die quaternären Alkyl-Tropeine, wie z. B. Eumydrin, Novatropin, — nebst ihren parasympathischen lähmenden Wirkungen, eine dreimal so starke ganglionblockierende Wirkung haben, wie TEA. Diese Wirkung kann bei quaternären Aralkyl-Tropeinen wesentlich modifiziert sein, und zwar: derart, daß die parasympathische lähmende Wirkung sich stark vermindert, und die ganglionblockierende Wirkung stark zunimmt. So z.B. wird die ganglionblockierende Wirkung, quaternärisiert mit einer p-Brombenzylgruppe, ungefähr aufs zehnfache vergrößert, dagegen wird die Parasympathicus-lähmende Wirkung ungefähr auf 0,1 vermindert. Die Verschiebung des Wirkungsverhältnisses ist noch mehr betont, wenn man mit einer Diphenylmethylgruppe quaternärisiert Diese Verbindungen sind durch ihre Blutdrucksenkungswirkung auch im praktischen Sinne sehr interessant.

Wenn man Tropin, das mit aromatischen Oxysäuren, z. B. mit Tropasäure acyliert ist, mit einer Diphenylmethylgruppe quaternärisiert, gelangt man zu Verbindungen von zwei Angriffspunkten: hierbei entfaltet sich zwischen der Parasympathicus-lähmenden und der ganglionblockierenden Wirkung ein günstiges Verhältnis. Diese Verbindungen sind aus therapeutischen Gründen sehr wichtig. Solch eine Verbindung ist z. B. Gastropin, von großer krampflösender Wirkung und bei den vegetativen Erkrankungen des Magen-Darmsystems, wie z. B. bei Ulcus, klinisch von guter Wirkung. Sein besonderer Vorteil ist, daß er keine Nebenwirkungen hat. In der Tropin-Serie sind die N-Äthylverbindungen aktiver als die N-Methyl-Analogen. Charakteristisch für die N-Äthylverbindungen ist, daß sie kaum Parasympathicus-lähmende Wirkung haben.

Diskussion. H. Haas (Ludwigshafen): Gelten die Unterschiede in der Wirkung wie sie für die quartären Isomeren aufgezeigt sind, auch in der Reihe der tertiären Verbindungen. In eigenen Versuchsreihen wurden nur geringste Differenzen in der Wirkstärke bei Isomeren, die einen tertiären N enthalten, gefunden.

Schlußwort K. Nádor: 1. Die erwähnten großen pharmakologischen Unterschiede sind nur bei den Quaternär-Verbindungen.

2. Einige Quaternär-Verbindungen haben hohe Nicotin-Aktivität (~ 80mal Nicotin), wenn die Tropine mit Benzoesäure esterifiziert und am N mit Diphenylmethyl-Gruppen quaternärisiert ist.

H. Lüllmann und W. Pracht (Mainz): Der Einfluß von Acetylcholin, Dekamethonium und d-Tubocurarin auf das Membranpotential denervierter Rattenzwerchfelle

Das Membranpotential von isolierten Rattenzwerchfellen wurde mit intracellulären Mikroelektroden gemessen. Für normale Zwerchfelle ergab

sich ein mittleres Membranpotential von etwa 88 mV. Nach Denervierung des Zwerchfells durch Phrenicusexhärese fiel das Membranpotential exponentiell ab und erreichte am 80. Tag nach Denervation einen Wert von etwa 67 mV, (Regressionsgleichung: $\hat{Y} = -88{,}99 + 11{,}57 \cdot X$; $Y = -$mV, X = log. Tage nach Denervation). Nach spontaner Reinnervation der Zwerchfelle hatten die Membranpotentiale wieder einen Wert, der dem der unbehandelten Kontrollen entsprach. Wir untersuchten die Wirkung von Acetylcholin (10^{-5} g/ml), Dekamethonium (10^{-4} g/ml) und d-Tubocurarin (10^{-5} g/ml) auf das Membranpotential zu verschiedenen Zeitpunkten nach der Denervation. Dabei ergab sich, daß Acetylcholin und C 10 in der angegebenen Konzentration immer um denselben Betrag depolarisierten, unabhängig davon, wie lang der Muskel denerviert war; während die Wirkung von Acetylcholin und C 10 auf das mechanische Verhalten des denervierten Skeletmuskels eine deutliche Abhängigkeit von der Denervationsdauer aufweist. So konnte früher von uns gezeigt werden (MUSCHOLL u. LÜLLMANN), daß das denervierte Rattenzwerchfell eine Woche nach der Denervation beginnt, bei Anwesenheit von Acetylcholin 10^{-5} oder C 10 10^{-4} g/ml eine Kontraktur zu entwickeln. d-Tubocurarin hatte unter denselben Bedingungen keinen Einfluß auf das Membranpotential. Na und K wurden in verschiedenen Denervationsstadien bestimmt. Nach der Denervation sinkt der intracelluläre K-Gehalt, während der intracelluläre Na-Gehalt ansteigt.

Literatur

MUSCHOLL, E. u. H. LÜLLMANN: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **226**, 88 (1955).

Diskussion. O. KRAUPP (Wien): 1. Welche Ursachen könnten angeführt werden, daß an der chronisch denervierten Kaltblütermuskulatur bisher keine Erniedrigung des Ruhepotentials als Folge der Denervierung beobachtet wurde?

2. Sehr bemerkenswert erscheint die Tatsache, daß die Membrandepolarisation durch Dekamethonium und Acetylcholin keine lokale Abhängigkeit von der etwa in der Mitte des Muskels gelegenen Endplattenzone aufweist.

G. DENTZER (Leipzig): Über einige Membranwirkungen von Komplexsalzen der Äthylendiamintetraessigsäure

In früheren Untersuchungen konnten wir nachweisen, daß stabile Komplexverbindungen der Äthylendiamintetraessigsäure sowohl am Ganztier als auch am isolierten Organ die Magnesiumwirkungen antagonistisch beeinflussen. Der Effekt mußte als calciumunspezifisch gedeutet werden, da er nicht nur mit Calciumkomplex, sondern auch mit Blei- und Mangankomplex erzielt werden konnte. In Anlehnung an diese Befunde untersuchten wir die Wirkung von Komplexverbindungen der

Äthylendiamintetraessigsäure mit hohen Komplexkonstanten auf verschiedene membranaktive Substanzen.

Als Anelektrotonica kamen d-Tubocurarin, Flaxedil, Novocain und Pantocain, als Katelektrotonica Dekamethonium, Acetylcholin, Succinylcholin, Kaliumchlorid und Alkohol zur Anwendung. Die Versuche wurden am isolierten Phrenicus-Zwerchfell der Ratte durchgeführt. Am stärksten antagonistisch beeinflußt wurde die Wirkung von Kaliumchlorid, weniger stark die von d-Tubocurarin und Flaxedil. Verstärkt dagegen wurde die Wirkung von Novocain, Pantocain, Acetylcholin und Alkohol. Die Wirkung von Succinylcholin wurde im angewandten Dosierungsbereich nicht beeinflußt. Am Froschrectus wurde die durch isoosmotische KCl-Lösung hervorgerufene Kontraktur sowohl durch den Calcium- als auch durch den Bleikomplex der Äthylendiamintetraessigsäure bis zu 95% gehemmt. Die Coffein-, Avertin- und Acetylcholin-Kontraktur wurde dagegen kaum beeinflußt.

Auf Grund unserer Versuche stößt eine Einordnung der membranaktiven Komplexverbindungen der Äthylendiamintetraessigsäure mit hohen Komplexkonstanten in die Gruppe der An- oder Katelektrotonica auf erhebliche Schwierigkeiten. Wir können auch noch nicht sagen, ob die dargestellten Effekte sich als reine Membranwirkungen erklären lassen oder ob ähnliche Mechanismen wie beim Calcium-d-Tubocurarin-Antagonismus eine Rolle spielen.

M. Siess und H. Kunze (Tübingen): Kontraktion und Erschlaffung des Rattenzwerchfells als Fasermodell

Isolierte Rattenzwerchfelle wurden nach den Angaben von Szent Györgyi u. Weber in gepufferten Glycerinlösungen extrahiert. Um eine Verkürzung der Muskelfasern beim Einlegen in die Glycerinlösung zu verhindern, wurden diese vorher zu diastolischer Unerregbarkeit gebracht. Diastolischer Stillstand ohne nachfolgende Kontraktur wurde durch rhythmische Reizung in glucosefreier Tyrodelösung erreicht. Dieser Vorgang dauert bis zum völligen Glykogenschwund Stunden. Einen wesentlich rascheren diastolischen Stillstand erzielt man durch Ersticken mit m/500 NaCN und gleichzeitige tetanische Reizung oder Kaliumchloridkontraktion. In beiden Fällen kommt es nach wenigen Minuten zu diastolischer Unerregbarkeit unter einem ATP-Verlust von etwa 40%. Zwerchfelle, welche zu diesem Zeitpunkt extrahiert werden, behalten ihren Erschlaffungszustand bei. Nach Extraktion sind die Präparate frei von Kalium, die Adenosinphosphate sind bis auf Spuren von etwa 5% verschwunden. Zwerchfellstreifen dieser Fasermodelle von etwa 25 bis 75 mg Gewicht wurden freischwebend zwischen zwei waagerechte Klemmen

eingespannt, von denen die eine fixiert, die andere über ein Pendel beweglich war. Die Verkürzung wurde über ein Auflichtmikroskop mit Ocularmikrometer gemessen, die Spannung über eine Feder, deren mechanische Ausschläge auf einen Dehnungsmeßdraht übertragen wurden. Über eine Brückenschaltung wurden die Widerstandsänderungen durch ein Meßgerät mit elektronischem Verstärker und Direktregistrierung aufgenommen.

Tropft man auf das eingespannte Fasermodell 0,1 ccm m/10 ATP-Lösung (Na_2H-ATP Boehringer), so verkürzt es sich in 10—20 sec um etwa 15—20% und entwickelt dabei Spannungen bis zu 400 mg. Die geleistete Arbeit liegt in der Größenordnung von 0,04 cmg. Ohne Federspannung verkürzt sich das Modell bis zu 35% der Ausgangslänge. Die geleistete Arbeit ist dabei geringer. Bei Dehnung des Präparates und Anlegen einer Vorspannung von etwa 400 mg beträgt die Verkürzung nach ATP nur noch etwa 9% mit einer Spannungsentwicklung bis zu 600 mg. Während der Kontraktion erfolgt in den Muskelfasern eine rapide Spaltung von ATP in ADP und IMP. Diese geht nach Erreichen des Kontraktionsgipfels weiter. Eine Spontanlösung der Kontraktion erfolgt nicht. Die gespaltene ATP-Menge übersteigt die nach der Arbeitsleistung theoretisch zu erwartenden Werte um ein Vielfaches. — Eine Verkürzung des Fasermodells mit Kontraktursubstanzen des lebenden Muskels wie Coffein, Monojodacetat oder Natriumfluorid gelingt nicht. Natriumcyanid das am ATP-freien Fasermodell keinerlei Wirkungen zeigt, beschleunigt die ATP-Kontraktion. Komplexbildner wie Glykokoll, Äthylendiamintetraessigsaures Natrium oder Alkalisierung mit Na_2HPO_4 zeigen diese beschleunigende Wirkung von NaCN nicht. Kaliumchloridlösungen hemmen von 2% an die Kontraktion des Fasermodells und führen am ATP-haltigen Fasermodell auf dem Gipfel der Kontraktion zugesetzt zu Erschlaffung, wenn eine Mindestspannung von etwa 200 mg erreicht ist. Mit steigender Kaliumchloridkonzentration erfolgt die Erschlaffung rascher. Am gleichen Modell läßt sich nach jeweiligem Spülen ATP-Kontraktion und KCL-Erschlaffung mehrmals wiederholen. ATP-*freie* Fasermodelle zeigen nach KCL-Zusatz keine Erschlaffung. Vorgabe hochprozentiger Kaliumchloridlösungen (2—10%) unterdrückt die ATP-Kontraktion und die fermentative ATP-Spaltung. Die Möglichkeit, daß der hohe Kaliumgehalt des lebenden Muskels für die Erschlaffung in vivo eine ähnliche Bedeutung hat, wird diskutiert. Außer Kaliumchlorid haben auch andere hochkonzentrierte Salzlösungen ($CaCl_2$, $BaCl_2$, KNO_3, KI u. a.) einen ähnlichen Erschlaffungseffekt bei ATP-Anwesenheit. Auffallend ist, daß hier, ebenso wie nach Erschlaffungen mit stark sauren oder alkalischen Lösungen, die Reversibilität im Unterschied zur Erschlaffung nach Kaliumchlorid meist schlecht ist. Von pharmakologischen Agentien zeigte am Fasermodell (Phenyl-[1-piperidino]-Essigsäure-β-

diäthyl-aminoäthylester-dichlorhydrat [Spasmopaparid-Nordmark] 2%) bei ATP-Anwesenheit eine erschlaffende Wirkung. Papaverin, Eupaverin, Oktinum waren wirkungslos.

G. Giebisch, O. Kraupp, B. Pillat und H. Stormann (Wien): Einfluß der Chlorionenkonzentration auf Ruhepotential, Kalium- und Milchsäurefreisetzung an der isoliert durchströmten Säugetiermuskulatur

An isoliert durchströmten hinteren Extremitäten[1] von Katzen wurden gleichzeitig das Ruhepotential des M. Gracilis intracellulär mittels Glasmikroelektroden, ferner die Kalium-, Chlorionen- und Milchsäurekonzentration der einströmenden sowie der aus der Extremität ausströmenden Flüssigkeit verfolgt. Außerdem wurde während der gesamten Versuchsdauer der Kontraktionszustand des M. Gastrocnemius laufend registriert. Es konnten die folgenden Beobachtungen gemacht werden:

Bei Inkubation des Gracilismuskels in normalem Ringer und Durchströmung der Extremität mit einer Blut-Tyrodeverdünnung betrug der Mittelwert des Ruhepotentials aus 228 Einzelmessungen 91,6 $\pm$ 6,7 mV Außerdem trat unter diesen Bedingungen praktisch kein Kaliumverlust der Muskulatur in Erscheinung, während die Milchsäurekonzentration in der ausströmenden Flüssigkeit um 1—2 mÄ/L höher als in der einströmenden Flüssigkeit lag. Durchströmung der Extremität bzw. Inkubation des Muskels mit einer Flüssigkeit, bei der die Kalium- und Natriumkonzentration unverändert, die Chlorionen jedoch zu $^3/_4$—$^4/_5$ durch Sulfationen ersetzt worden waren, führte zum Auftreten einer Kontraktur des Gastrocnemiusmuskels, zu vorübergehendem Absinken der gemessenen Potentiale auf Werte von 30—50 mV und zu einem Anstieg der Kaliumionen und der Milchsäurekonzentration in der ausströmenden Flüssigkeit um 2—3 bzw. 3—4 mÄ/L. In allen 10 Durchströmungsversuchen konnte gezeigt werden, daß das Ausmaß der Depolarisation proportional der Erniedrigung der Chlorionenkonzentration war. Ein weiterer typischer Befund war eine während der Depolarisation auftretende Instabilität des Membranpotentials: Bei langsam ablaufender zeitlicher Registrierung konnten spontan auftretende und mit einer Dämpfung ablaufende Aktionspotentialsalven nachgewiesen werden. Etwa 20—30 min nach der Umschaltung hatte der Spannungszustand des Muskels wieder seinen Ausgangswert, und das Ruhepotential einen zeitlich konstanten Wert von durchschnittlich 70—80 mV erreicht. Auch die arterio-venösen Differenzen der Kaliumionen und der Milchsäure waren zu diesem Zeitpunkt konstant (Kalium —1 bis —2 mÄ/L, Milchsäure —3 bis —4 mÄ/L).

Gleichzeitige Reduktion der Chlor- und Natriumionen unter äquiosmolarem Ersatz durch Saccharose bewirkte keine Veränderungen am

Spannungszustand des M. Gastrocnemius; das Ruhepotential des Gracilismuskels war nicht nennenswert verändert, während die Kalium- und Milchsäurekonzentration der ausströmenden Flüssigkeit unmittelbar nach der Umschaltung um 1—2 mÄ/L anstieg und auf diesem erhöhten Wert blieb, solange die Extremität mit der reduzierten Natriumchloridkonzentration durchströmt wurde. Umschaltung auf normale Durchströmung bzw. Inkubation führte in allen Fällen zu einer Wiederkehr des normalen Ruhepotentials bzw. zum Absinken der erhöhten Ausflußkonzentrationen für Kaliumionen und Milchsäure.

Bei der Erklärung des Mechanismus der Wirkung der Sulfationen auf die Muskulatur ist die Ähnlichkeit der Erscheinungen (Depolarisation, Kaliumfreisetzung, Kontraktur und Instabilitätserscheinungen der depolarisierten Membran[3,4] mit der des Veratrins auf die Muskelmembran auffallend. Es ist naheliegend, für die Sulfatwirkung in Analogie zur Veratrinwirkung[3] eine Erhöhung der Natriumpermeabilität als eine der Ursachen für das Zustandekommen der beobachteten Erscheinungen anzunehmen. Zusätzlich muß an die gleichzeitig erfolgende Störung eines an der Muskelmembran vorhandenen Donnangleichgewichtes durch die Erniedrigung der Chlorionen[1] gedacht werden.

Literatur

[1] Boyle, P. J., and E. J. Conway: J. of Physiol. **100**, 1 (1941). — [2] Kraupp, O., H. Stormann, B. Pillat u. P. H. Clodi: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **229**, 419 (1956). — [3] Kuffler, S. W.: J. of Neurophysiol. **9**, 367 (1946). — [4] Straub, R. W.: Helvet physiol. Acta **14**, 1 (1956).

Diskussion. W. Rummel (Düsseldorf): Handelt es sich bei dieser Sulfatwirkung nicht um eine Entionisierung von Ca an der Membran? Einige Befunde deuten darauf hin.

Die erhöhte Lactatbildung könnte eine Folge der ansteigenden Kaliumaußenkonzentration sein (Ashford, C. A. u. K. C. Dixon, Biochemic. J. **29**, 157. 1935).

Schlußwort O. Kraupp zu W. Rummel: Die beobachteten Erscheinungen gleichen sicher weitgehend denen nach Calciumentzug. Unter Annahme eines Löslichkeitsproduktes für $CaSO_4$ von $8 \cdot 10^{-5}$ ergibt sich für unsere Versuche eine Mindestkonz. von 1,6 mM/L freie Ca-Ionen, ein Wert, der noch zu keinem Auftreten von Ca-Entzugserscheinungen führt. Allerdings können in unmittelbarer Nähe der Membran etwas andere Verhältnisse vorliegen.

Wir fassen die Lactatbildung als Folge des ständigen Kaliumausstroms auf, der die Ursache der Kaliumaußenkonzenstrationserhöhung ist. In der Kausalkette liegt die Milchsäurebildung sicher zeitlich vor dem Eintreten des Anstieges der extracellulären Kaliumkonzentration.

Zu H. Kewitz: Die Ursache, daß in den Saccharoseversuchen trotz beträchtlicher Herabsetzung der extracellulären Chloridkonzentration nur eine geringe Membrandepolarisation auftritt, kann damit begründet werden, daß eine Verschiebung von Kaliumchlorid aus dem Zellinnern den zunächst erniedrigten Chlorionenkonzentrationsgradienten wieder weitgehend auf den Ausgangswert zurückführt.

W. Wirth, R. Gösswald und W. Vater (Wuppertal-Elberfeld): Zur Pharmakologie acylierter Phenothiazin-Derivate

Im Zusammenhang mit Untersuchungen über chemische Konstitution und pharmakologische Wirkung auf dem Gebiet der Phenothiazin-Derivate sind wir auf eine Gruppe gestoßen, die sich durch besondere pharmakodynamische Aktivität auszeichnet. Es handelt sich um in 3-Stellung acylierte Phenothiazin-Derivate, die von den Chemikern Hörlein u. Risse synthetisiert worden sind. Aus einer größeren Reihe solcher von uns untersuchten Stoffe sollen hier nur 3 Verbindungstypen in Betracht gezogen werden, bei denen als Seitenkette am Stickstoff des Phenothiazin-Gerüstes entweder der Dimethylamino-propyl-Rest sitzt (wie bei Megaphen[1]) oder der N-Methylpiperazino-propyl-Rest oder der Morpholino-propyl-Rest. Innerhalb dieser 3 Gruppen untersuchten wir besonders die 3-Acetyl-, die 3-Propionyl- und die 3-Butyryl-Verbindung.

Die *zentral-sedative* Wirkung der 3-acylierten Verbindungen, in Motilitätstesten untersucht, liegt mit gewissen Abweichungen im wesentlichen in der Größenordnung des Megaphen. Dies gilt auch für die Potenzierung der Barbiturat-Narkose.

Bemerkenswert ist bei allen Verbindungen eine deutliche *kataleptische* Wirksamkeit von der Art, wie sie vor kurzem von dem französischen Präparat Stemetil[1], einem 3-Chlor-Phenothiazin-Derivat mit N-Methyl-piperazino-propyl-Seitenkette, berichtet wurde. Es wird zur Zeit geprüft, in welcher Weise sich dieser Effekt klinisch ausnützen läßt.

Ebenfalls in den zentralen Bereich gehört die ungewöhnlich starke *antemetische* Wirksamkeit eines Teils der Stoffe. Diese wurde am Hund ermittelt, der vor Apomorphin die Präparate subcutan zugeführt erhielt. Von den Verbindungen mit der Dimethylamino-propyl-Seitengruppe ist die 3-Propionyl-Verbindung hier sehr wirksam. Auffällig stark erwiesen sich in dieser Versuchsanordnung die 3-acylierten Piperazino-propyl-Phenothiazin-Derivate. Sie sind etwa 100mal antemetisch wirksamer als Megaphen. Dieser Effekt steht in keinem erkennbaren Zusammenhang mit den Anti-Histamin-Eigenschaften dieser Stoffe. Die 3-Acyl-Phenothiazine mit Piperazino-propyl-Rest sind nach unseren Tierversuchen die stärksten Antemetica, die bisher bekannt geworden sind.

Demgegenüber besitzen die entsprechenden 3-acylierten Phenothiazin-Derivate mit Morpholino-propyl-Rest keine über Megaphen hinausgehende antemetische Wirkung, zeichnen sich aber durch besonders gute allgemeine und örtliche Verträglichkeit aus,

Ein wesentlicher Teil der *peripheren* Megaphen-Wirkung wird auf die adrenolytische Wirksamkeit bezogen. Das Ergebnis der Untersuchung dieser Wirkungskomponente an der isolierten Rattensamenblase läßt

[1] Eingetragenes Warenzeichen.

bei den 3-Acyl-Verbindungen mit der für Megaphen typischen Seitenkette eine erhebliche Verstärkung dieser Wirkungskomponente erkennen. Das gleiche gilt auch für die Stoffe mit der Morpholino-propyl-Seitenkette, während die acylierten Derivate mit der N-Methylpiperazino-propyl-Seitenkette sich wie Megaphen verhielten. Diese in-vitro-Versuche gehen aber nur begrenzt parallel mit den Blutdruckwirkungen an Hund, Katze und Ratte. In noch nicht völlig geklärter Weise scheinen die Stoffe in vivo zum Teil in Produkte umgewandelt zu werden, die eine wesentlich bessere Kreislaufverträglichkeit aufweisen, als es nach dem in-vitro-Test an der Rattensamenblase zu erwarten gewesen wäre.

Ein guter Hinweis für die Auswirkungen der adrenolytischen Wirkungskomponente auf den Kreislauf ergibt sich am Hund bei folgender Kreislauf-Regulationsprüfung: Wird ein nicht-narkotisierter Hund, der bequem auf einem Tisch liegt, aus der Horizontalen hochgehoben, so daß die Hinterbeine noch eine Stütze auf dem Tisch finden, so reagiert er fast immer mit einem kurzen Blutdruckanstieg. Dieser ist wohl auf eine kurzdauernde vermehrte Adrenalin-Ausschüttung zu beziehen. Wird ein adrenolytisch besonders wirksames Präparat gespritzt, so kommt es beim Erheben in die Vertikale zu einer kurzdauernden, leicht meßbaren Blutdrucksenkung, die einer orthostatischen Reaktion entspricht. Zum Beispiel zeigte die adrenolytisch stark wirksame Verbindung 3-Acetyl-10-Dimethylamino-propyl-Phenothiazin in unserem Test schon nach 0,2 mg/kg i.v. am Hund eine kollapsartige Vasodilatation. (Diese ausgesprochene Kollapsneigung nach diesem Stoff wurde inzwischen auch klinisch bestätigt.) Andererseits wurde durch 3-Butyryl-10-(4′-methyl-piperazin)-propyl-Phenothiazino auch nach der 15fachen Dosis, 3 mg/kg i.v., eine orthostatische Reaktion nicht ausgelöst.

Aus unseren Untersuchungen, über die an anderer Stelle eingehend berichtet wird, ergibt sich, daß die Qualität der Wirkung weitgehend von der Art der Substitution in der Seitenkette am Stickstoff des Phenothiazingerüstes abhängt, die Quantität von der Substitution in 3-Stellung. Acylierung in dieser Stellung bedeutet Verstärkung.

K. Grauper und K. Feller (Dresden): Zur Frage der Megaphenwirkung auf die Leukocytenregulation

Von zahlreichen Autoren wurde nach Megaphen eine Senkung der Leukocytenwerte beschrieben, deren Ursache bisher nicht genügend geklärt ist.

Wir verwendeten für unsere Versuche weiße Ratten, die nach 16stündigem Futterentzug und Gewöhnung der Tiere an das Versuchsgeschehen 10 mg Megaphen/kg s.c. injiziert erhielten. Die Blutentnahme erfolgte aus dem Schwanz. Die Leukocyten- und Erythrocytenwerte wurden nach den gebräuchlichen

Zählmethoden bestimmt. Zur Einschränkung der methodischen Fehlerbreite führte nur eine Person die Blutentnahmen und Zählungen durch. Das Differentialblutbild basiert auf der Auszählung von 200 Zellen des Blutausstriches.

Nachdem wir in früheren Versuchen nach Megaphen eine positive Korrelation zwischen Körpertemperatur und Stoffwechselgröße zeigen konnten, prüften wir, ob eine solche auch zwischen Körpertemperatur und Leukocytenwerten besteht. Bei einer Umgebungstemperatur von 18—20°C fanden wir an 25 Tieren bei 50 Beobachtungen nur eine schwach positive Korrelation, die bei Logarithmierung der Leukocytenzahlen zwar straffer wurde, aber immer noch mit einer Überschreitungswahrscheinlichkeit von 28% behaftet war. In einer zweiten Versuchsreihe wurden die Tiere 3 Std vor Versuchsbeginn einer Umgebungstemperatur von 30—32°C ausgesetzt. Die Senkung der Körpertemperatur nach Megaphen blieb dann aus. Trotzdem kam es zu einem Leukocytensturz, der sich auch quantitativ nicht von dem der ersten Versuchsreihe unterschied. Beide Befunde machen eine Änderung der Leukocytenzahlen als Folge des temperatur- bzw. stoffwechselsenkenden Megaphen-Effektes unwahrscheinlich.

Küchler u. Koch und Kopf konnten nach Megaphen bzw. einigen anderen Phenothiazinen keine Leukocytose mit Adrenalin und Nor-Adrenalin mehr beobachten und deuteten dies als sympathicolytischen Effekt. In Nachprüfung dieser Befunde stellten wir fest, daß die bekannte Leukocytose nach 25 γ Adrenalin bzw. Nor-Adrenalin/kg i.p. erst auftrat, wenn sich die Versuchstiere an das experimentelle Geschehen gewöhnt hatten und niedrigere Leukocytenwerte aufwiesen, und weiterhin das Maximum der Steigerung zwischen 5—10 min post injectionem lag. Eine vorherige Gabe von 10 mg Megaphen/kg s.c. unterdrückte die Adrenalin- bzw. Nor-Adrenalin-Leukocytose nicht, es wurde im Gegenteil ein unter Berücksichtigung des Wilderschen Ausgangsgesetzes verständlicher, prozentual höherer Effekt beobachtet. Nach diesen Befunden ist unseres Erachtens eine Beziehung zwischen dem sympathicolytischen Effekt des Megaphens und der Leukocytenregulation problematisch.

Zur Frage der Angriffspunktes führten wir weitere Versuche an dekapitierten Ratten durch. Die Dekapitation erfolgte in Äthernarkose nach der von Sherrington für Katzen angegebenen und von Simon für die Ratte modifizierten Methode. Nach der Dekapitation fielen die Leukocyten exponentiell ab und erreichten innerhalb 30 min etwa den Minimalwert der intakten Tiere nach Megaphen-Applikation. Zu diesem Zeitpunkt injizierten wir 1 mg/kg Megaphen i.p. und konnten einen weiteren signifikanten Abfall der Leukocytenwerte feststellen. Dagegen erfolgte auf 25 γ Nor-Adrenalin bzw. Adrenalin/kg i.v. ein ebenfalls statistisch gesicherter Anstieg der weißen Blutzellen in der Peripherie.

Daraus darf unseres Erachtens geschlossen werden, daß in Übereinstimmung mit NASU und CREDNER u. KRÜGER die Leukocytose nach Sympathicomimetica überwiegend peripher bedingt ist und Megaphen eine von zentralen Effekten unabhängige, periphere und unmittelbare Wirkung auf Mechanismen der Leukocytenregulation besitzt.

Literatur

CREDNER, K., u. K. KRÜGER: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **216**, 310 (1952). — KOPF, R.: Arneimittel-Forsch. **6**, 220 (1956). — KÜCHLER, A., u. R. KOCH: Klin. Wschr. **1955**, 426. — NASU, Y., zit. n. F. HOFF: Klin. Wschr. **1938**, 638.

M. KRAMER (Mailand): Zur antiphlogistischen Wirkung des Histaminliberators Compound 48/80 und einiger Antihistamica

In früheren Untersuchungen wurde festgestellt, daß die über mehrere Tage sich erstreckende Behandlung von Ratten mit insgesamt 11 mg/kg des Histaminliberators Compound 48/80 ausreichend ist, um Rattenpfotenhaut maximal an Histamin zu verarmen. Diese Vorbehandlung verhinderte jedoch nicht das Auftreten von Ödemen nach Dextran oder Eier-Eiweiß, während nach einer länger dauernden Vorbehandlung mit entsprechend höheren Dosen Compound 48/80, die bezüglich der histaminfreisetzenden Wirkung gleich wirksam waren, Dextran- oder Eiereiweißödeme nur noch in wenigen Fällen auftraten. Danach ist eine Bedeutung des Histamins für den Entstehungsmechanismus der Ödeme wenig wahrscheinlich.

Da nach dem histologischen Bild und dem Verlauf der durch Dextran oder Eieralbumin bewirkten anaphylaktoiden Reaktionen Zweifel entstanden, ob sie als echte Entzündungen anzusehen sind, wurde der Einfluß von Compound 48/80 und einigen Antihistaminen auf die Ricinentzündung untersucht. Ricin ist ein Protein aus Ricinussamen mit stark entzündungserregenden Eigenschaften. Das verwendete Präparat wurde im Pharmakologischen Institut der Freien Universität Berlin von SCHÖNE isoliert und weitgehend gereinigt. In Dosen von 0,5 γ subcutan in Rattenpfoten injiziert, verursachte es eine erhebliche Entzündungsreaktion, die nach einigen Tagen mit Nekrosen einherging und an unbehandelten Kontrolltieren in 28 Tagen abheilte. Die Vorbehandlung mit insgesamt 11 mg/kg Compound 48/80 reduzierte die Heilungsdauer um 22%, mit 26 mg/kg dagegen um 49%. Die Unterschiede waren untereinander und gegenüber den Kontrollen statistisch gesichert. Da die angewandten Dosen von Compound 48/80 bezüglich ihres histaminfreisetzenden Effektes gleich wirksam sind, kommt hier erneut ein antiphlogistischer Effekt der Substanz zum Ausdruck, der keine Beziehung zum Histamin hat.

Die chronische Behandlung mit täglich 10 mg/kg Neoantergan führte ebenfalls zu einer signifikanten Verkürzung der Heilungsdauer, während 10 mg/kg Chlorpromazin und 100 mg/kg Aminophenazon pro Tag keine Wirkung hatten.

Verschiedene Substanzen wurden an den ersten beiden Tagen in je einer Einzeldosis intraperitoneal gegeben. Nach 2 × 30 mg/kg Promethazin verkürzte sich die Heilungszeit um 42%, nach 2 × 20 mg/kg Chlorpromazin um 21% und nach 2 × 50 mg/kg Neoantergan um 17%. Die Unterschiede waren signifikant. Die zweimalige Behandlung mit Benadryl, Aminophenazon, Phenylbutazon und Na-Salicylat war unwirksam.

Alle wirksamen Substanzen waren Antihistaminica, wobei jedoch kein Zusammenhang zwischen der antiphlogistischen und Antihistaminaktivität bestand und eine Verbindung dieser Gruppe, Benadryl, keinen Effekt hatte.

Histaminbestimmungen im entzündeten Pfotengewebe ergaben, daß während des Ablaufs der Ricinentzündung Histamin nicht in nachweisbaren Mengen freigesetzt wird.

Aus den Ergebnissen wird geschlossen, daß bei der nekrotisierenden Entzündung Histamin keine wesentliche Rolle spielt und die antiphlogistische Wirkung der Antihistamine nicht auf ihrem histaminantagonistischen Effekt beruht.

Eine mögliche Bedeutung des 5-Hydroxytryptamins bei der entzündlichen Gewebsreaktion wird im Zusammenhang mit Befunden anderer Autoren diskutiert.

Schlußwort M. Kramer zu H. Oettel: Als Endpunkt der Heilung wurde die vollständige Epithelialisierung angesehen. Die Beurteilung wurde ausschließlich von mir vorgenommen, um Beobachtungsfehler möglichst zu eliminieren.

H. Haas (Ludwigshafen): Beitrag zur Analyse des Wirkungstypus entzündungserregender Substanzen

Die Reizstoffe verursachen bekanntlich eine direkte Alteration des Gewebes, die unmittelbar durch das einwirkende Agens bedingt ist. Bei dieser „Primär-Wirkung" unterscheiden sie sich, wie Heubner nachweisen konnte, in ihren spezifischen Angriffspunkten und in ihrem Wirkungstyp. Der Effekt der Reizstoffe bleibt aber bei genügender Reizintensität nicht auf den lokalen Prozeß beschränkt, er wird vielmehr in der Regel Sache des Gesamtorganismus, da der örtliche Vorgang als Teil des Ganzen bestimmt Regulationsmechanismen im Organismus wach ruft. Dies wird offenbar durch eine Sequenz von begleitenden Allgemeinreaktionen, wie etwa der Verschiebung des Blutbildes, die für alle ausgewählten Reizstoffe in einer weitgehend übereinstimmenden Form nachweisbar ist. Offenbar untersteht der Ablauf des örtlichen Geschehens auch in umgekehrter Richtung einer Regulation von seiten

des Hypophysen-Nebennierensystems, die in einem, wiederum bei allen Reizstoffen etwa gleichartig ausfallenden Eosinophilensturz bzw. einer Abnahme des Ascorbinsäuregehaltes der Nebennieren ihren Ausdruck finden. — Ein Nachweis, der bereits für Histamin, Eier-Eiweiß und Dextran von anderen Untersuchern erbracht wurde.

Nach der Hypophysektomie verschwindet bei einer größeren Zahl von Reizstoffen der Leukocytenanstieg, die Eosinophilenreaktion und die Depletionswirkung praktisch völlig. Die akute lokale Reaktionsphase, gemessen am Schwellungszustand des Fußes nach subplantarer Injektion der Reizstoffe, fällt aber an normalen und hypophysenlosen Tieren, mit Ausnahme des Terpentins, praktisch gleichartig aus. Ebenso ist die Proliferation des Mesenchym nicht gehemmt, wie die Befunde mit Crotonöl, Senföl und Terpentinöl im Fremdkörpergranulationstest zeigen. Meier u. Mitarb. hatten bereits mit diesem Verfahren, bei dem die zu prüfenden Substanzen in einem indifferenten Wattebausch eingebracht, über mehrere Tage s.c. zur Einwirkung gelangen, nachweisen können, daß Crotonöl unter diesen Bedingungen eine Sonderstellung unter den chemischen Reizstoffen einnimmt, und sie erwähnen auch für Terpentin, daß es ein besonders geartetes reizendes Agens darstelle. Diese Feststellung wird durch die eigenen Beobachtungen insofern erweitert, als sich zeigen ließ, daß diese drei Stoffe am hypophysenlosen Tier nicht nur die Reaktion des Mesenchym begünstigen, sondern auch den Ascorbinsäuregehalt der Nebenniere senken und eine Abnahme der Eosinophilen im Blut veranlassen. Vielleicht ist hierin eine Deutungsmöglichkeit für den fördernden Effekt auf das Granulationswachstum im Sinne einer Proliferationsbegünstigung über die Nebennieren gegeben. Jedenfalls ist auffallend, daß lediglich die Reizstoffe, die die Granulationsentwicklung fördern, auch am hypophysenlosen Tier noch einen Depletionseffekt setzen, während alle anderen chemischen Reize in beiden Testen diese Wirkungskomponente vermissen lassen.

Für die weitere Analyse des Wirkungsmechanismus bleibt zu klären, ob die Aktivitätssteigerung der Nebenniere bei fehlender Hypophyse durch eine direkte Einwirkung des Reizstoffes zustande kommt oder durch andere secundäre Mechanismen bedingt ist. Der Signalisierungsmodus kann dabei prinzipiell 2 Wege gehen: den nervalen oder den humoralen. Im letzteren Falle können eine Ausschüttung von Adrenalin bzw. Freisetzung von Histamin ursächlich als indirekt auslösende Faktoren in Frage kommen. Daneben ist ein Abfall des Nebennierenrindenhormonspiegels infolge eines vermehrten peripheren Verbrauches in Betracht zu ziehen. Bei Crotonöl gelingt es indes weder mit Antihistaminen, Sympathicolytica, Ganglienblockern noch mit Luminal in narkotischer Dosis oder Hydrocortison-Vorbehandlung, den Abfall der Eosinophilen im Blut und der Ascorbinsäure in den Nebennieren aufzuhalten. Dabei

entfalten alle diese Stoffe, wie schon Marquardt feststellen konnte, einen entzündungshemmenden Effekt, der sich in der Minderung des Schwellungszustandes eindeutig fassen läßt. Dazu entfällt die Leukocytose, und es resultiert eine verstärkte und verlängerte leukopenische Phase, in der wahrscheinlich ein Zeichen einer verminderten Anpassung zu erblicken ist. Alle Stoffe, welche eine Hemmung des örtlichen Reizvorganges bewirken, sind demnach imstande, bestimmte Allgemein-Syndrome abzuschwächen oder zu unterdrücken. Nicht betroffen bleibt hiervon das System der Hypophysen-Nebenniere, bei dem ausschließlich nach einer Durchschneidung des N. ischiad. die Depletionswirkung des Crotonöls unter der gewählten Versuchsbedingung, der subplantaren Applikation, zu verhindern ist, während der Eosinophilensturz selbst nach Unterbrechung der nervösen, sensiblen Elemente unverändert vor sich geht. Es gibt demnach offensichtlich höchst differenzierte Wirkungsweisen und voneinander unabhängige Mediatoren, durch die eine Beeinflussung der Nebennierenrinde zustandekommt, wobei allerdings in Rechnung zu stellen ist, daß der Eosinophilentest in seinen Resultaten aus technischen und statistischen Gründen nicht ohne Skepsis beurteilt werden kann. Der auffallende Befund der Aufhebung der Depletion durch Crotonöl nach Durchschneidung des Ischiadicus läßt sich auch für Dextran und Eier-Eiweiß erheben. Den im Ischiadicus verlaufenden sensiblen Elementen scheint also in diesem Falle eine besondere Bedeutung zuzukommen. Beim Histamin läuft der Depletionseffekt dagegen auf völlig anderen Wegen, in dem hier nur ein Antihistamin prophylaktisch wirksam ist.

Selbstverständlich ist das vorgelegte Material nicht ausreichend, um zu allen angeschnittenen Fragen definitiv Stellung zu nehmen. Aber so viel ist wohl aus ihm zu folgern, daß die einzelnen Reizstofftypen in ihrer besonderen Wirkungsart nicht ausschließlich auf den primären Reizvorgang beschränkt bleiben, daß vielmehr, ebenso wie bei den örtlichen Gewebsvorgängen, auch in die vielgestaltigen Regulationsmechanismen des Organismus die Charakteristik des einwirkenden Agens mit eingeht.

Literatur

W. Heubner: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **107**, 129 (1925). — Dtsch. med. Wschr. **1933**, 39. — Marquardt, P., zit. n. L. Heilmeyer: Verh. dtsch. Ges. inn. Med. **62**, 227 (1956). — Meier, R., P. Desaulles u. B. Schär: Verh. Naturf. Ges. Basel **67**, 447 (1956); Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **224**, 104 (1953).

E. Kreppel (Bonn): Zur quantitativen Bestimmung von Adrenalin-Noradrenalin-Gemischen

Für die quantitative Bestimmung von Adrenalin und Noradrenalin aus biologischen Extrakten stehen uns verschiedene physikochemische

und biologische Methoden zur Verfügung. Der Vorteil der chemischen Methoden liegt in ihrer schnellen und einfachen Durchführbarkeit. Ihr gemeinsamer Nachteil aber ist, daß sie nichts über die biologische Aktivität der gefundenen Werte aussagen. Es ist daher die biologische Kontrolle der gefundenen Meßwerte unerläßlich.

Der Nachweis blutdruckaktiver Substanzen wird am sichersten an ihrer Blutdruckwirkung selbst geführt. Das am besten geeignete Versuchsobjekt hierfür ist die Spinalkatze, deren Dekapitation sich mit einer geeigneten Schlinge in weniger als 1 min sehr einfach und schonend durchführen läßt.

Bei der biologischen Prüfung von Adrenalin, Noradrenalin bzw. deren Gemische verlaufen *bei ansteigender Dosierung* die Dosiswirkungskurven unterschiedlich. Daraus aber ergibt sich, daß sich gleichwirksame Dosen dieser Stoffe nicht ohne weiteres zueinander in quantitative Beziehung setzen lassen. Mit anderen Worten: Es läßt sich — abgesehen von einzelnen mehr oder weniger zufallsbedingten Ausnahmen — kein Wirkungsverhältnis auf Grund einzelner gleichwirksamer Dosen von Adrenalin und Noradrenalin aufstellen, wie z. B. am Katzenblutdruck von 2:1, 1,5:1 oder in ähnlichen von Tier zu Tier schwankenden Werten. Solche Angaben sind nur berechtigt für jeweils eine einzige Dosis; denn sie kennzeichnen nicht den Verlauf der Dosiswirkungskurven. Das gilt prinzipiell in gleicher Weise für die Spinalkatze, den Rattenblutdruck, wie auch für isolierte Organe, wie Darm- und Uruspräparate. Diese Tatsache ist vielfach bei biologisch quantitativen Arbeiten übersehen worden. Ein zweiter Umstand ist bei der biologischen Austestung von Adrenalin und Noradrenalin zu beachten: *Bei gleichbleibender Dosis* ändert sich mit steigender Zahl der Injektionen die Empfindlichkeit von Adrenalin und Noradrenalin in unterschiedlicher Weise. Um zu einer verwertbaren Konstanz zu kommen, sind oftmals 20 bis 30 vorausgehende Testinjektionen erforderlich. Auch hier gilt Analoges für isolierte Organe. Hieraus läßt sich einerseits ersehen, daß die rein biologische Austestung, wenn sie exakt sein soll, außerordentlich kompliziert und langwierig ist, andererseits reicht aber, wie schon gesagt, die wesentlich einfachere physikochemische Bestimmung für sich alleine nicht aus. Wir schlagen daher zur Kontrolle der chemisch erhaltenen Meßwerte folgenden vereinfachten Weg vor:

Zunächst werden die Extrakte einem colorimetrischen oder fluorimetrischen Verfahren unterworfen. Daraus ergibt sich anhaltsmäßig das Verhältnis von Adrenalin zu Noradrenalin. Die erhaltenen Werte werden dann unter Berücksichtigung des eben gesagten an einer Spinalkatze auf ihre biologische Wirksamkeit kontrolliert. Zu Beginn verabreicht man der Katze mittlere gleichbleibende Adrenalin- und Noradrenalin-Dosen bis zu einer fast konstanten Sensibilität für beide Pressoramine. Die

Anzahl der dazu erforderlichen Injektionen ist von Tier zu Tier unterschiedlich. Dann wird die unbekannte Mischung beider Stoffe in steigenden Konzentrationen injiziert. Um Änderungen der Adrenalin- und Noradrenalin-Empfindlichkeit des Spinalpräparates im Laufe des Versuches zu erfassen, werden nach jeder 5. bis 6. Injektion jeweils eine Eichzacke für Adrenalin und Noradrenalin eingeschoben, um die vorher erhaltenen Werte später korrigieren zu können. Anschließend werden verschiedene Dosen bekannter Mischungsverhältnisse ebenfalls ansteigend injiziert. Diese Verhältnisse ergeben sich anhaltsmäßig aus der chemischen Vorprobe. Bei der Auswertung werden die systolischen Blutdruckanstiege jeder einzelnen Lösung zu einem Dosiswirkungsdiagramm vereinigt. Der praktisch geradlinige Teil der so erhaltenen Dosiswirkungskurve der unbekannten Mischung wird dann in Beziehung gesetzt zu dem deckungsgleichen Teil einer bekannten Mischung und die biologische Wirksamkeit in Prozent der colorimetrisch oder fluorimetrisch gefundenen Werte angegeben.

Dieses Vorgehen hat den Vorteil, daß die praktische Durchführung wesentlich einfacher ist als die rein biologische Austestung und Differenzierung. Darüberhinaus wird die Fehlerbreite der rein physikochemischen Methode eingeengt. Dieses einfache Verfahren läßt sich schneller durchführen als eine langwierige chromatographische Trennung der beiden Pressoramine und reicht vor allem für die Beantwortung der vom Kliniker an uns gestellten Fragen aus.

Schlußwort E. Kreppel: Ratten halten die Injektionsmengen, die notwendig sind, um zu exakten Dosiswirkungskurven zu kommen, nicht so gut aus wie Katzen.

H. Dengler und G. Reichel (Heidelberg): Die Beeinflussung der Blutdruckwirkung von Dopa und Dops durch einen Decarboxylase-Inhibitor

Für die Biogenese der Catecholamine hat in jüngster Zeit die schon von Blaschko und von Holtz u. Mitarb. diskutierte Reaktionsfolge, die vom Dopa über Hydroxytyramin zum Noradrenalin führt, durch neue experimentelle Befunde an Wahrscheinlichkeit gewonnen. Es war von Interesse festzustellen, ob die Dopadecarboxylase, das Enzym des ersten Reaktionsschrittes, auch *in vivo* zu hemmen ist, nachdem mit zahlreichen Substanzen in vitro eine Hemmung zu erzielen ist.

Untersucht wurde die Blutdruckwirkung von Dopa (l-3,4-Dioxyphenylalanin) und Dops (threo-3,4-Dioxy-phenylserin), aus denen durch Decarboxylierung Hydroxytyramin bzw. Noradrenalin als die pressorisch wirksamen Stoffe entstehen, vor und nach Verabreichung von dl-α-Methyl-β-(3,4-dioxy-phenyl)-Alanin, eines von Sourkes beschriebenen Inhibitors der Dopadecarboxylase.

An der *Spinalkatze* ist die charakteristische langsam ansteigende und langdauernde Blutdrucksteigerung durch Dopa 20 min nach der Injektion des Inhibitors (100 mg/kg) vollständig aufgehoben.

Dies gilt auch für die *Ratte*; hier läßt sich außerdem der Einfluß des Inhibitors auf die Blutdruckeffekte des Dops demonstrieren, das an diesem Testobjekt zu einer zweiphasigen Drucksteigerung führt. Die Deutung, daß der initiale steile Blutdruckanstieg durch in dem Dops-Präparat vorhandenes Noradrenalin bedingt ist, und das sekundäre Plateau durch laufend aus der Decarboxylasereaktion anfallendes Noradrenalin unterhalten wird, ließ sich dadurch wahrscheinlich machen, daß nur die zweite Phase nach dem Inhibitor (20 mg/kg) verschwindet, während die bestehenbleibende initiale Drucksteigerung nach Passieren der Dops-Lösung durch einen Kationenaustauscher aufgehoben und durch Regitin im selben Maße abgeschwächt wird wie eine äquipressorische Noradrenalindosis.

Auch die Blutdrucksenkung durch Dopa am *Meerschweinchen*, die auf der von Holtz u. Mitarb. beschriebenen depressorischen Oxytyramin-Wirkung beruht, läßt sich durch 80 mg/kg Inhibitor aufheben.

Die Verschiedenheit der bei den einzelnen Tierarten benötigten Inhibitordosen (Katze > Meerschweinchen > Ratte) ist bedingt durch die verschiedene Fermentaktivität der Organe, für die sich in Warburg-Versuchen (Nierenextrakte) — teils in Bestätigung älterer Befunde — die Reihenfolge Meerschweinchen > Ratte > Katze fand und durch die differente Empfindlichkeit der Versuchstiere gegen die durch Decarboxylierung freiwerdenden Amine.

Für das Meerschweinchen berechnet sich unter Annahme eines dem gesamten Körperwasser entsprechenden Verteilungsraumes die im Stadium der aufgehobenen Dopa-Wirkung vorliegende Inhibitorkonzentration zu $6 \cdot 10^{-4}$ molar.

Aus den Untersuchungen werden 2 Folgerungen gezogen:

1. Es läßt sich erstmals beweisen, daß die Catecholaminocarbonsäuren auch in relativ hoher Dosierung keine Eigenwirkungen am Blutdruck besitzen. Sie wirken ausschließlich über die aus ihnen durch Decarboxylierung entstehenden Amine.

2. Bei Untersuchungen an verschiedenen Tierarten verhalten sich Dopa und Dops stets gleichsinnig. Nach hinreichender Inhibitordosis sind die Blutdruckeffekte beider Substanzen aufgehoben. Es ergibt sich von hier kein Anhalt für die Existenz zweier verschieden hemmbarer Enzyme.

Diskussion. G. Hertting (Wien): 1. Wir konnten an unserem Institut bei papierchromatographischer Auftrennung von Dops sowie von der von Dalgliesh beschriebenen Adrenalincarbonsäure die pressorische Aktivität fast ausschließlich in der Zone des entsprechenden Amins feststellen. Die Zonen der Carbonsäuren waren kaum mehr wirksam.

2. Die bei Ratten festgestellte Blutdruckniveauerhöhung nachfolgend der primären Blutdrucksteigerung fanden wir nur bei Hexamethonium sensibilisierten Tieren, deren Blutdruck auch nach anderen blutdrucksteigernden Substanzen die Tendenz zum Anstieg hat. Bei Ratten, welche mit Reserpin (4—8 mg/kg i.p., 4 Std vor dem Versuch) sensibilisiert wurden und genau so empfindlich sind, oder Spinalkatzen war dieser Effekt trotz hoher Dops-Dosen nicht festzustellen. Da Dops äußerst schlecht decarboxyliert wird, halten wir diesen sekundären Effekt keinesfalls für eine Wirkung des freiwerdenden Noradrenalins.

P. Holtz (Frankfurt a. M.): Dioxy-phenylserin wird viel schwächer decarboxyliert als Dopa. Es ist bisher nicht im Organismus nachgewiesen worden. Der von Schümann geführte Nachweis von Oxytryamin in sympathischen Nerven und Ganglien sowie sein Vorkommen im Nebennierenmark spricht dafür, daß Dopa und nicht Dioxyphenylserin „Muttersubstanz" des Noradrenalins ist. Wurde der Einfluß von Pyridoxal-5-phosphat auf die Blutdruckwirkung von Dopa bzw. Dioxyphenylserin untersucht?

Schlußwort H. Dengler zu G. Herting: 1. In unserem Dops-Präparat, das wir Herrn Prof. Dr. Ehrhardt, Hoechst, verdanken, betrug die Beimengung von Noradrenalin etwa 0,1%. Inwieweit für die Entstehung des Noradrenalins die zur Lösung des Dops notwendige Erwärmung auf 80° C anzuschuldigen ist, muß diskutiert werden. Allgemein sind ja β-Oxy- und Oxycarbonsäuren leichter zu decarboxylieren als die nicht substituierten Stammverbindungen.

2. Wir glauben nicht, daß es sich bei der sogenannten 2. Phase der Blutdrucksteigerung nach Dops (Ratte, Urethannarkose, Hexamethonium) um eine Täuschung durch spontane Drucksteigerung infolge Nachlassens der Ganglienblockerwirkung handelt (Kurvenbild).

Zu P. Holtz: Im Stadium der aufgehobenen Dopa-Wirkung (Ratte, Katze) vermochte die Injektion von Pyridoxalphosphat, vor oder zusammen mit Dopa gegeben, die pressorische Wirkung von Dopa im allgemeinen nicht wieder herzustellen. In einzelnen Versuchen gelang dies, ohne daß wir eine Erklärung dafür hätten.

A. Engelhardt, D. Jerchel, H. Weidmann und H. Wick (Mainz und Ingelheim): Verteilung und Ausscheidung von Preludin

Ein im Tetrahydroxazinring an C_2 mit C^{14} markiertes Preludin wurde Mäusen in Dosen von 100 mg/kg subcutan und Ratten in Dosen von 10 mg/kg intravenös injiziert, und 48 Std lang die Radioaktivität in Geweben und Exkrementen verfolgt. Eine über die durchschnittliche Gewebskonzentration hinausgehende Anreicherung fand sich kurzfristig in der Lunge und längerdauernd in Nieren, Leber und Magen- und Dünndarmwandung. Die Ausscheidung erfolgt zu 95—99% im Harn, wo sie innerhalb 8 Std beendet ist, der Rest erscheint von der 8. Std ab im Kot. In der Exspirationsluft war radioaktives Kohlendioxyd nicht nachweisbar. Die hauptsächlichen Stoffwechsel- und Ausscheidungsorgane sind Nieren und Leber, daneben der Magen, in dem eine Ausscheidung in das Lumen hinein stattfindet, die 3—6% der injizierten Dosis ausmacht. Die Leber sezerniert mehr als 40% der applizierten Aktivität über die Galle in

den Dünndarm, wo die Hauptmenge in den enterohepatischen Kreislauf rückresorbiert wird, um endgültig über Nieren und Harn den Körper zu verlassen. An radioaktiven Stoffwechselprodukten ließen sich im Rattenharn mindestens 2, in der Galle 3 papierchromatographisch und physikalisch-chemisch differenzierbare noch nicht identifizierte Substanzen nachweisen. Unverändertes Preludin wurde im Harn nur nach der hohen Dosis von 100 mg/kg wiedergefunden, nach 10 mg/kg nicht.

Diskussion. F. Hauschild (Leipzig): Es wird gefragt, ob als Abbauprodukt von Preludin intermediär Amphetamin oder ein analoges Phenylpropylamin auftritt und insbesondere, ob man um deren Nachweis bemüht war.

Schlußwort Engelhardt (Ingelheim): Die Entstehung von Amphetamin oder ähnlichen Substanzen beim Preludinabbau ist unwahrscheinlich, da Preludin teilweise zum Phenol oxydiert wird und die bei der Tetrahydroxazinring-Sprengung auftretenden Produkte keine Ähnlichkeit mit Amphetamin besitzen.

H. Reinert (London): Zum Wirkungsmechanismus der Amphetamine

Die Amphetamine („A"), DL-Amphetamin, D-Amphetamin und Methyl-Amphetamin, unterscheiden sich von sympathicomimetischen Aminen unter anderem dadurch, daß sie in ihrer Wirkung durch Denervierung und Cocain nicht potenziert (Fleckenstein 1953), die Blutdruckwirkung mit Ergotalkaloiden nicht umgekehrt werden kann, tachyphylaktische Eigenschaften und eine nicotinartige Wirkung auf Ganglienzellen (Kewitz u. Reinert 1953).

Am isoliert durchströmten Halsganglion der Katze hemmen „A" nach vorangehender Eigenerregung die submaximale elektrische Dauererregung (5—20 V.; 3,5 msec; 2 c/sec), jedoch nicht die durch Acetylcholin erzeugte chemische Reizung. Bei supramaximaler elektrischer Dauererregung ($>$ 20 V; 3,5 msec; 2 c/sec) werden beide Erregungsformen durch „A" gehemmt. Die erregende Wirkung der „A" am normalen und chronisch präganglionär denervierten Halsganglion wird durch d-Tubocurarin, Tetraäthylammonium, Pentamethonium, Hexamethonium und Pendiomid gehemmt. Am chronisch denervierten Ganglion kann im Gegensatz zum normalen Ganglion keine Tachyphylaxie für „A" und Nicotin nachgewiesen werden.

Die ganglionäre Entleerungsphase am Dünndarmpräparat nach Trendelenburg wird durch „A" gehemmt, während im Gegensatz zu Adrenalin und Nor-Adrenalin die muskuläre Vorbereitungsphase unbeeinflußt bleibt. „A" erzeugen eine Kontraktion, Adrenalin und Nor-Adrenalin eine Erschlaffung der glatten Muskulatur des Dünndarmes. Die durch „A" hervorgerufene Blutdrucksteigerung an der Katze wird durch Hexamethonium gehemmt. Mit zunehmender „A"-Tachyphylaxie

nimmt die blutdrucksteigernde Wirkung des Nicotins und des 1,1-Dimethyl-4-Phenyl-Piperazin (DMPP) ab. Ist die Tachyphylaxie vollkommen, dann erzeugt Nicotin und DMPP keine oder nur eine geringgradige Blutdrucksteigerung und „A" eine Blutdrucksenkung.

Die nicotinartige Wirkung der „A" führt zu einer Adrenalinausschüttung aus dem Nebennierenmark und damit zu einem Fortfall der sekundären Phase des Blutdruckanstieges nach Splanchnicusreizung.

Die primäre Phase des Blutdruckanstieges nach Splanchnicusreizung nimmt mit zunehmender Tachyphylaxie ab.

Die atmungssteigernde Wirkung der „A", auf einer Erregung der Chemoreceptoren beruhend, kann am isolierten Carotis Sinus Präparat durch Hexamethonium, hohe Dosen Nicotin und Durchschneidung des Sinusnerven aufgehoben werden.

Amphetamin, Nicotin und 5-Hydroxytryptamin erzeugen am Kaninchen einen Blutdruckabfall, der wahrscheinlich auf einer Chemoreceptorerregung beruht. Nach Zerstörung des Z.N.S. (Spinalkaninchen) rufen die genannten Verbindungen einen Blutdruckanstieg hervor, der mit Ausnahme des durch 5-Hydroxytryptamin erzeugten, durch Hexamethonium hemmbar ist.

Auf Grund der beschriebenen Befunde kann geschlossen werden, daß die Blutdruckwirkung der „A" auf einer nicotinartigen Erregung und Hemmung sympathischer Ganglien beruht. Diese nicotinartige synaptotrope Wirkung der „A" ist möglicherweise ebenfalls die Ursache für ihre zentral erregenden und lähmenden Eigenschaften.

Literatur

Fleckenstein, A.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **218** 117 (1953). — Kewitz, H., u. H. Reinert: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **218**, 119 (1953).

Diskussion. F. Hauschild (Leipzig): In früheren, über 20 Jahre zurückliegenden Untersuchungen mit Amphetaminen gelang es nicht, über den peripheren Wirkungsmechanismus Klarheit zu erhalten. Dies war beim damaligen Stand unserer Kenntnisse auch nicht zu erwarten. Um so erfreulicher und auch von praktischer Bedeutung (Verwendung von Amphetaminen und Ganglienblockern!) ist es, nunmehr klarer zu sehen. Amphetamin ist also kaum noch als Sympathicomimeticum zu bezeichnen.

W. Blechschmidt und W. Schoetensack (Konstanz): Der Einfluß von Analeptica auf den Kreislauf der narkotisierten und nicht narkotisierten Katze

Widersprechende Angaben und differierende eigene Ergebnisse über den Einfluß zentralerregender Substanzen auf den Kreislauf an der narkotisierten Katze veranlaßten uns, die Faktoren aufzusuchen, welche für das unterschiedliche Verhalten verantwortlich sind. In diesem

Zusammenhang wurde eine Methode zur Kreislaufregistrierung am nichtnarkotisierten Tier entwickelt.

Hierzu erhalten Katzen intramuskulär 0,4—0,6 mg/kg d-Tubocurarin. 10 bis 15 min danach Tracheotomie in leichter Äthernarkose. Anschließend Auslösung von 1—2 Elektroschocks mittels Augenelektroden (100 Milliamp., 50 Hz, 0,8 sec). Bei Auftreten eventueller Krampferscheinungen nochmalige Verabreichung von 0,2 bis 0,4 mg/kg d-Tubocurarin. Zur Vornahme der nun folgenden Präparation ist es möglich, an Stelle des Elektroschocks das Tier weiterhin mit wenig Äther zu beatmen. Es hat sich jedoch erwiesen, daß sich die Tiere unter den gegebenen Versuchsbedingungen nach dem Elektroschock auch ohne Curareapplikation ebenso ruhig verhalten wie in tiefer Narkose.

Blutdruckregistrierung entweder mittels Quecksilbermanometer oder photographisch über die Wismuttauchspule nach Hampel und Rein; Flußmessung nach Dawes, Mott u. Vane; Registrierung der Pulsfrequenz nach Dittmar. Bei der Mehrzahl der Tiere wurde zur Ausschaltung peripherer Kreislaufreflexe der Carotissinus beidseitig denerviert und zudem Vagus und Sympathicus durchtrennt.

Prinzipiell führen Pentamethylentetrazol (Cardiazol, Wz.), Nikethamid (Coramin, Wz.), β-Äthyl-β-methylglutarimid (Megimid, Wz.) und bemerkenswerterweise auch Strychnin nach intravenöser Injektion zu einer beträchtlichen Blutdrucksteigerung. Dieser pressorische Effekt wird durch für Tierversuche gebräuchliche Narkotica z.B. β-Bromäthyl-sek.-butyl-barbitursaures Na. = Pernocton (Wz.), Hexobarbital = Evipan (Wz.) und Chloralose entweder weitgehend reduziert, aufgehoben oder sogar in eine Blutdrucksenkung umgekehrt.

Am nichtnarkotisierten Tier variiert das Ausmaß des Blutdruckanstieges bei den gewählten Dosen von Cardiazol (5—10 mg/kg), Coramin (50—100 mg/kg) und Megimid (5 mg/kg) zwischen 100 und 200 mm Hg; bei Strychnin (0,5 mg/kg) zwischen 40 und 100 mm Hg. Die Dauer des pressorischen Effektes hängt bei Cardiazol und Coramin wesentlich von der Dosis ab, wobei bei 5 bzw. 50 mg/kg der Ausgangswert nach 7 bis 10 min und derjenige von 10 bzw. 100 mg/kg nach 7—20 min wieder erreicht ist. Nach Applikation von 5 mg/kg Megimid ist der Ausgangswert im Verlauf von 15—20 min und nach Strychnin (0,5 mg/kg) innerhalb von 3—10 min wieder erreicht.

Der Fluß in der Art. carotis nimmt an der nichtnarkotisierten Katze in allen Fällen erheblich zu, wobei wir nach der Applikation von Cardiazol und Coramin eine Abnahme des Widerstandes (gleichbedeutend mit einer aktiven Gefäßdilatation) beobachten. Im Gegensatz hierzu steigt der Widerstand in der Art. femoralis teilweise so extrem an, daß trotz der erheblichen Blutdrucksteigerung nur eine geringfügige Flußzunahme von kurzer Dauer zu beobachten war.

Am narkotisierten Tier verhält sich der Fluß unter dem Einfluß der genannten Analeptica in der Art. carotis weitgehend druckpassiv. In der Art. femoralis erfolgt im Gegensatz zu der beobachteten

Widerstandszunahme am nichtnarkotisierten Tier zuweilen eine aktive Gefäßdilatation insbesondere nach Strychningabe.

Bei jeder Untersuchung des Einflusses zentralerregender Substanzen auf den Kreislauf des narkotisierten Tieres muß demnach stets mit der Möglichkeit gerechnet werden, daß bestimmte Kreislaufvorgänge durch Narkotica soweit verändert werden können, daß sie jenen am nichtnarkotisierten Tier völlig entgegengesetzt sind. Dies gilt auch für die Untersuchung anderer Substanzen mit zentralerregenden Eigenschaften. So kann z. B. Aminophenazon, welches am narkotisierten Tier stets eine Blutdrucksenkung hervorruft, in geeigneten subkonvulsiven Dosen trotz seines periphervasodilatatorischen Effektes am nichtnarkotisierten Tier zu einer ausgeprägten Blutdrucksteigerung führen.

Der bekannte Antagonismus zwischen Narkoticum und Analepticum gilt demnach nicht nur für motorische sondern auch für vegetative Funktionen. Offen bleibt, inwieweit eine Korrelation hinsichtlich der erforderlichen Dosen zur Unterdrückung der motorischen Reaktion einerseits und der vegetativen Funktionen andererseits besteht. Bemerkenswert ist, daß der Antagonismus gegenüber dem pressorischen Effekt nicht allein auf die narkotisch wirkenden Pharmaka beschränkt ist, sondern auch für andere Produkte mit zentraldämpfenden Eigenschaften, wie z. B. Mephenesin gilt. Die Wirkung der beschriebenen Narkotica ist daher kein Ausdruck für ihre spezifisch narkotischen Eigenschaften.

Literatur

Hampel, A.: Pflügers Arch. **244**, 171 (1941). — Dawes, G. S., J. C. Mott and J. R. Vane: J. of Physiol. **121**, 50 (1953).

Diskussion. H. Oettel (Ludwigshafen): Die Versuche von Herrn Blechschmidt verdienen höchste Anerkennung, der Einfluß der Narkose wird leider bei pharmakologischen Versuchen viel zu wenig berücksichtigt. Für die Darmarbeit wurde das von mir selbst vor Jahrzehnten gezeigt.

Es wäre nun interessant zu hören, ob Morphin, das bekanntlich sensibilisierend gegen die Krampfwirkung von Cardiazol und anderen Analeptica wirkt, auch die Blutdruckwirkung sensibilisiert.

F. Hahn (Düsseldorf): Die Untersuchungen des Vortragenden stellen eine wertvolle Ergänzung, aber keine Entwertung der Versuche an narkotisierten Tieren dar. Abgesehen davon, daß für praktische Belange gerade das Verhalten der Analeptica in der Narkose von Wichtigkeit ist, haben die Versuche mit Analeptica an narkotisierten Tieren zu interessanten Tatsachen geführt, die für die Erkentnisse der zentralen Blutdruckregulation nicht ohne Bedeutung sind. Es wird hingewiesen auf das unterschiedliche Verhalten von Cardiazol und Coramin in Abhängigkeit von Tierart und Narkoseart, Narkosetiefe und Applikationsweg. Wenn auch unter Umständen durch Narkotica die blutdrucksenkende Wirkung gewisser Analeptica begünstigt werden kann, so konnten doch Oberdorf u. Schunk nachweisen, daß im schweren Veronalkollaps massive Dosen von Cardiazol, Megimid und Pikrotoxin den Blutdruck wieder heben und zur Beseitigung des Kollapses führen.

E. Roesch (Darmstadt): Wurden die Versuche mit Chloralose-Narkose mit reiner Chloralose oder mit Chloralose-Urethan durchgeführt?

W. Schoetensack zu Hahn: Sofern ihre Untersuchungen das Ziel hatten, Analeptica auf „Weckwirkungen" am narkotisierten Tier zu prüfen, stehen sie selbstverständlich nicht im Gegensatz zu unseren. Will man jedoch die Eigenwirkung der gebräuchlichen Analeptica und die anderer zentralerregender Substanzen auf den Kreislauf unbeeinflußt von antagonistisch wirksamen Produkten erfassen und vergleichen, so lassen sich derartige Untersuchungen nicht am narkotisierten Tier durchführen. Überdies ist die von uns beschriebene Methode auch zur Prüfung solcher Substanzen, deren Wirkung auf einige Kreislauffunktionen durch Narkotica in nicht vorherzusehender Weise beeinflußt werden kann, geeignet.

Zu Oettel: Der Einfluß von Morphin auf die Kreislaufwirkung der genannten Analeptica wurde nicht geprüft. Auf den durch den Elektroschock an der Katze auslösbaren pressorischen Effekt, wirken kleinere Morphindosen fördernd, größere hemmend.

Schlußwort W. Blechschmidt: zu Roesch: Die injizierte Chloraloselösung enthielt kein Urethan.

Zu Hahn: Die Injektion der genannten Analeptica erfolgte im allgemeinen 45—90 min nach Pernocton- bzw. Chloralosegabe; also zu einem Zeitpunkt, zu welchem mit einer vollen Wirkung der i. v. injizierten Narkotica zu rechnen ist. Zudem handelt es sich um Dosen, wie sie zur Herbeiführung einer Vollnarkose am Tier gebräuchlich sind.

A. Oberdorf und R. Schunk (Düsseldorf): Untersuchung über Methyl-Äthyl-Glutarsäureimid

Vor kurzem sind die Analeptica zur Behandlung der Barbituratvergiftung um das Methyl-Äthyl-Glutarsäureimid (Megimide, Eukraton) (Shaw u. Mitarb.) bereichert worden. Dieser Stoff ist als kompetitiver Barbituratantagonist angesprochen worden. Wir sind dieser Auffassung entgegen getreten und haben den funktionellen Antagonismus betont, weil alle Eigenschaften des Megimide dafür sprechen, daß dieser Stoff ein Analepticum vom speziellen Typ des Pentamethylentetrazol (Cardiazol) und Pikrotoxin ist. So ist es ein Krampfgift, weist gegenüber Barbituraten reziproken Antagonismus auf, ist in seiner Wirkung nicht auf Barbiturate beschränkt (siehe auch Soehring u. Mitarb.) und wirkt auf vegetativem Gebiet genau wie Cardiazol und Pikrotoxin, z. B. blutzuckersteigernd, atmungssteigernd und temperatursenkend. Auch die zentrale Blutdruckwirkung ist vorhanden. Megimide besitzt also eine Eigenwirkung, die nicht an die Anwesenheit von Barbiturat gebunden und der Barbituratwirkung funktionell entgegengerichtet ist.

Daneben ist auch sein Charakter als Krampfgift dem des Cardiazol sehr ähnlich, so z. B., wenn man das Krampfbild betrachtet, oder das Verhältnis von Krampfdosis zu tödlicher Dosis oder die Heraufsetzung

der tödlichen Dosis durch Veronal. Diese Übereinstimmung ist wichtig weil sie auf eine Ähnlichkeit der Angriffspunkte hindeutet. Wie die Krampfdosen beider Stoffe verhalten sich in etwa auch die Weckdosen bei Barbiturateinwirkung.

Bei einem Vergleich von Megimide, Cardiazol und Pikrotoxin am Katzen-EEG bei verschiedenen Graden von Veronalvergiftung sollten nun Daten über die EEG-Reaktivierung, die therapeutische Breite und die Wirkungsstärke, gemessen an der Schwere der Vergiftung, gewonnen werden. Gleichzeitig wurde der Blutdruck registriert, da sein Verhalten unter diesen Bedingungen noch nicht untersucht ist.

Alle 3 Analeptica vermochten bei ausreichender Dosierung in fraktionierten Gaben die Wirkung von Veronaldosen bis zu 500 mg/kg auf das EEG aufzuheben. Die Dosen betrugen von Megimide 20—70, von Cardiazol 50—175 und von Pikrotoxin 0,5—2,0 mg/kg. In diesem Bereich betrug die therapeutische Breite gegenüber Krampfstromanfällen für Megimide das 9—26fache, für Cardiazol das 13—26fache und für Pikrotoxin das 1,7—3,4fache der Reaktivierungsdosen. Die Sicherheitsbreite gegenüber Krampfströmen war geringer. Bei Pikrotoxin traten sie auch in therapeutischer Dosierung meist wenigstens vorübergehend auf.

Bei schwererer Veronalvergiftung nahm die EEG-aktivierende Wirkung aller Analeptica ab. Cardiazol war bei 900 mg/kg Veronal noch wirksam, nicht mehr bei 1100 mg/kg. Hier war die Wirkung von Megimide und Pikrotoxin auch sehr schwach. Selbst in diesem Veronalbereich neigte Pikrotoxin zu Krampfströmen mit meist generalisierten Zuckungen.

Die Unterschiede der Analeptica liegen demnach in einem so hohen Veronaldosenbereich, wie er wahrscheinlich praktisch nie in Frage kommt. Cass, der am Kaninchen-EEG Cardiazol gegenüber 40 mg/kg Nembutal unwirksam, Megimide aber wirksam fand, dosierte Cardiazol wahrscheinlich zu niedrig. Er gab nämlich statt des 2,5fachen nur knapp das 0,4fache von Megimide.

In allen untersuchten Veronaldosenbereichen führten die EEG-aktivierenden Dosen der 3 Analeptica meist zu beträchtlichem Wiederanstieg des durch Veronal gesenkten Blutdrucks, am stärksten bei Pikrotoxin. Bei Überdosierung traten Senkungen auf, die bei Megimide und Cardiazol ausgeprägter und häufiger waren als bei Pikrotoxin. Die blutdrucksteigernde Wirkung war durch Veronal offenbar schwerer zu hemmen als die EEG-Aktivierung. Cardiazol steigerte noch erheblich auch nach Erlöschen der aktivierenden Wirkung am EEG nach 1100 mg/kg Veronal.

Diese Ergebnisse stützen die Annahme, daß Megimide mit Cardiazol und Pikrotoxin in einer Reihe steht, jedoch dem Cardiazol ähnlicher ist. Damit müßten die Vorbehalte, die gegenüber Cardiazol und Pikrotoxin

hauptsächlich auf Grund von Befunden von Schmidt, Kety u. Pennes gemacht werden, auch für Megimide gelten. Nach diesen Befunden steigt im Krampf der Sauerstoffbedarf des Gehirns über die Kapazität des Hirnkreislaufs hinaus. Dieses Ergebnis ist auch für den therapeutischen Bereich der Analeptica als gültig betrachtet worden.

Es wurde daher am Hund die Hirndurchblutung im Sin. sagitt. sup. mit blutiger eichbarer Thermostromuhr und die arteriovenöse Sauerstoffdifferenz über dem Gehirn mit dem Brinkmanschen Hämoreflektor vor und nach 200 mg/kg Veronal und nach Gaben der 3 Analeptica bis zum Krampfanfall gemessen und außerdem das EEG aufgenommen. Auch am Hund ließ sich das EEG durch therapeutische Dosen aller 3 Stoffe reaktivieren. Bei Überdosierung kam es zum Krampfanfall. Therapeutische Dosen der 3 Analeptica führten Hirndurchblutung und -sauerstoffverbrauch, die durch Veronal gesenkt worden waren, wieder zum Ausgangswert zurück. Beim Krampfanfall waren Durchblutung und Sauerstoffverbrauch stark gesteigert, ohne daß die arteriovenöse Sauerstoffdifferenz zunahm.

Literatur

Cass, N. M.: Brit. J. Anaesthesia **28**, 325 (1956). — Frey, H. H., E. W. Hushahn u. K. Soehring: Arzneimittel-Forsch. **6**, 583 (1956). — Hahn, F., A. Oberdorf u. R. Schunk: Dtsch. med. Wschr. **1956**, 1643. — Schmidt, C. F., S. S. Kety and H. H. Pennes: Amer. J. Physiol. **143**, 33 (1945). — Shaw, F. H., S. E. Simon, N. M. Cass, A. Shulman, J. R. Anstee and E. R. Nelson: Nature (Lond.) **174**, 402 (1954).

Diskussion. H. Oettel (Ludwigshafen): Nach amerikanischen Angaben soll Pikrotoxin bei Schlafmittelvergiftungen günstig, bei Opium und Morphinvergiftungen contraindiziert sein. Nach Oberdorf hat Pikrotoxin eine wesentlich geringere therapeutische Breite als Cardiazol, so daß man die krampfsensibilisierende Wirkung mit Pikrotoxin wohl leichter erreicht als mit Cardiazol. Es besteht also zwischen beiden Produkten offenbar kein grundsätzlicher Unterschied, Cardiazol ist nur das Mittel mit der größeren therapeutischen Breite, infolgedessen klinisch sicherer als Pikrotoxin.

K. Soehring (Hamburg): Es wird auf die Übereinstimmung der Ergebnisse des Düsseldorfer Arbeitskreises mit denen unserer Gruppe hingewiesen. Insbesondere werden die jetzt vorgetragenen Befunde verhüten, daß die von Shaw u. Mitarb. propagierte Auffassung eines „kompetitiven Antagonismus" zwischen β,β-Methyl-äthyl-glutarsäureimid und Barbituraten in die Lehrbücher eindringt.

H.-H. Frey (Hannover): Untersuchungen zum Stoffwechsel einiger intravenöser Kurznarkotica

An Hunden wurden Abbau und Ausscheidung gebräuchlicher Kurznarkotica nach einmaliger Applikation klinischer Dosen in Urin und Plasma untersucht. Besondere Beachtung wurde dabei Abbauprodukten mit hypnotischer Wirkung geschenkt.

Die Trennung der Stoffwechselprodukte erfolgte mittels eindimensionaler, aufsteigender Papierchromatographie; als Lösungsmittel wurde für Thiobarbiturate das von Dietz u. Soehring (1957) (n-Butanol-Amylalkohol-Ammoniak 2:2:1), für N-Methylbarbiturate das von Seifert (1956) (n-Butanol-Chloroform-Ammoniak 120:55:25) angegebene verwendet. Die Thiobarbiturat-Flecken wurden durch eine Kupfersulfat-Diäthylamin-Lösung dargestellt, Barbiturate durch Quecksilber^{I}-nitrat. Die Identifizierung von Abbauprodukten erfolgte — soweit möglich — durch parallel laufende Reinsubstanzen.

Für *Hexobarbital* konnte im Urin ein Abbau über nor-Hexobarbital, keto-Hexobarbital und keto-nor-Hexobarbital bestätigt werden. Davon, hat nur nor-Hexobarbital eine hypnotische Wirkung, die $2^1/_2$mal unter der von Hexobarbital liegt. Nor-Hexobarbital konnte im Plasma nicht nachgewiesen werden. Unverändertes Hexobarbital war im Urin 4 bis 24 Std lang, im Plasma 2—7 Std lang nachweisbar; die Gesamtausscheidung von Stoffen mit Barbitursäurekonfiguration dauerte 48 Std.

Bei *Eunarcon* konnte eine Demethylierung zu Propallylonal, dessen narkotische Wirkung die Größenordnung der Ausgangssubstanz erreicht, gezeigt werden. Im Plasma trat Propallylonal nur in Spuren auf. Unverändertes Eunarcon war im Urin bis zu 7 Std, im Plasma 1—4 Std lang nachweisbar, die Gesamtausscheidung dauerte 72—120 Std.

Nach Injektion von *Thiopental* konnte in Urin und Plasma Pentobarbital in annähernd gleicher Konzentration wie Thiopental nachgewiesen werden. Die hypnotische Wirksamkeit beider Substanzen ist etwa gleich. Als Abbauprodukt mit Thiobarbiturat-Konfiguration trat ein Fleck auf, der wahrscheinlich mit 5-Äthyl-5-(3-oxy-1-methylbutyl)-thiobarbitursäure identisch ist. Im Urin war Thiopental 72—120 Std, Pentobarbital 96—120 Std, im Plasma Thiopental 4—24 Std, Pentobarbital 48 Std lang nachweisbar. Die Gesamtausscheidung dauerte 6—7 Tage; nach Applikation von Pentobarbital ließen sich dagegen Substanzen mit Barbiturat-Konfiguration nur 2—4 Tage lang nachweisen.

Für *Inactin* konnte gezeigt werden, daß der Abbau anscheinend ausschließlich über das hypnotisch stark wirksame Butabarbital vor sich geht. Inactin ließ sich unverändert im Urin 48—96 Std, im Plasma 24—48 Std lang nachweisen, für Butabarbital betrugen die entsprechenden Zeiten 96—144 Std im Urin und 48—72 Std im Plasma. Die Inactin- und Butabarbital-Konzentrationen im Plasma entsprachen sich im Anfang größenordnungsmäßig, von 24 Std an waren die Butabarbital-Flecken größer. Die Gesamtausscheidungsdauer für Inactin betrug 4—6 Tage, nach alleiniger Injektion von Butabarbital verschwand die Barbitursäure-Konfiguration nach 3 Tagen.

Nach Injektion von *Thiogenal* konnte in Urin und Plasma außer dem bekannten hypnotisch unwirksamen Thiogenal-Sulfoxyd eine desulfurierte Substanz mit hohem R_f-Wert, bei der es sich vermutlich

um 5-Methylthioäthyl-5-(1-methylbutyl)-barbitursäure handelt, nachgewiesen werden. Ihr dürfte eine hypnotische Wirkung zukommen. Unverändertes Thiogenal war im Urin 48—72 Std, die entsprechende desulfurierte Substanz 24—72 Std nachweisbar, im Plasma traten beide Substanzen nur schwach und kurz auf. Die Gesamtausscheidung von Thiogenal hielt 3—5 Tage an. Nach Injektion von Thiogenal-Sulfoxyd konnten im Urin sowohl Thiogenal als auch die erwähnte desulfurierte Verbindung nachgewiesen werden.

Der Abbau der Thiobarbiturate über hypnotisch stark wirksame Barbiturate ist geeignet, den nach diesen „Ultrakurznarkotica" klinisch bei Mensch und Hund oft beobachteten „hangover" zu erklären. Die Gesamtausscheidungszeiten der Thiobarbiturate liegen teilweise erheblich über denen gebräuchlicher Durchschlafmittel. Eine derartig lange Anwesenheit von Produkten mit Barbitursäure-Konfiguration im Körper könnte möglicherweise die Ausbildung von Allergien begünstigen. Hexobarbital war demgegenüber durch eine außerordentlich kurze Ausscheidungsperiode gekennzeichnet.

Diskussion. K. Soehring (Hamburg): Bei Mensch und Hund können verschiedene Abbauprodukte gefunden werden. Aber auch beim Menschen haben wir Pentobarbital nach Thiopentalgaben nachgewiesen.

Der Unterschied zwischen Thiobarbituraten und Barbituraten in der Narkoseanwendung ist nach Freys Befunden nicht allzu groß.

W. Schoetensack und G. Schreiber (Konstanz): Zur Physiologie und Pharmakologie der Veratraminerregung

Veratrumalkaloide führen am Tier zu Erregungserscheinungen, welche abhängig von der chemischen Konstitution der einzelnen Alkaloidgruppen charakteristische Unterschiede aufweisen. — Während sich die blutdrucksenkenden Esteralkaloide im allgemeinen auf brecherregende Eigenschaften beschränken, führen die schwach kreislaufwirksamen tertiären Amine zu erhöhter Motilität und vermehrter reflektorischer Erregbarkeit; Tremor und schwere Krämpfe bewirken die sekundären Amine Jervin und Veratramin sowie dessen Glykosid Veratrosin (Krayer), wobei nach Tanaka Veratramin an der Maus etwa 10fach wirksamer als die beiden anderen Amine ist.

Bereits 0,25 mg/kg Veratramin, intravenös appliziert, lösen beim Kaninchen einen Tremor und 1 mg/kg Krämpfe aus, 2 mg/kg können schon tödlich wirken. Als tremor- bzw. krampferzeugende und als tödliche Dosis (ED_{50} und LD_{50}) wurden an der Ratte nach intravenöser Gabe 0,46; 1,35 und 7,05 mg/kg und an der Maus 0,63; 1,0 und 2,68 mg/kg ermittelt.

Der Ablauf des Veratraminkrampfes ist nicht mit dem nach Cardiazol-, Coramin- oder auch Strychninapplikation zu beobachtendem vergleichbar; besonders hervorstechend sind eigenartige Rollkrämpfe, wobei die Tiere unter Umständen über längere Zeit um ihre eigene Achse rotieren, ferner extreme Zappelbewegungen der Extremitäten, in deren Verlauf das Kaninchen Seitenlage und die Maus Bauchlage einnimmt, wodurch bei letzterer der Eindruck von Schwimmbewegungen hervorgerufen wird. Wird bei der Ratte durch Unterbrechung der Verbindungen rostral der Pons eine Mittelhirnstarre erzeugt, so ist, wenn auch teilweise abgeschwächt, Tremor und Krampf noch auslösbar, jedoch nicht mehr nach Durchtrennung des Halsmarks.

Von grundsätzlichem Interesse erscheint das Verhalten der Veratraminerregung gegenüber Pharmaka mit zentraldämpfenden Eigenschaften. Die Prüfung von Substanzen aus verschiedenen chemischen Reihen ergab, daß an der Maus sowohl Barbiturate wie 5-Phenyl-5-äthyl-barbitursäure und 5-Methyl-5-cyclohexenyl-barbitursäure als auch gebräuchliche Antikonvulsiva wie 5,5-Diphenyl-hydantoin, 3-Methyl-5-phenyl-5-äthyl-hydantoin und 3,5,5-Trimethyl-oxazolidin-2,4-dion bis in den Bereich tödlicher Dosen den Veratraminkrampf nicht und den Veratramintremor nur teilweise hemmen. Somit unterscheiden sich Veratraminkrampf und -tremor auch in ihrem pharmakologischen Verhalten völlig von den durch Cardiazol, Coramin oder Strychnin hervorrufbaren Krampf- und Erregungszuständen.

Einige tertiäre Alkohole wie 1-Äthinyl-cyclohexanol-carbamat und 1-Bromäthinyl-cyclooctanol sowie Phenylacetylharnstoff und Reserpin heben den Krampf, nicht jedoch den Tremor auf. Krampf und Tremor scheinen demnach auf verschiedenen Mechanismen zu beruhen. Der Tremor unterscheidet sich nicht nur durch seine größere Intensität, sondern auch durch seine Resistenz gegenüber hohen Atropindosen von dem durch 1,4-Dipyrrolidin-2-butin (Tremorin) auslösbarem.

Wirksam sowohl gegenüber dem Veratraminkrampf als auch gegenüber dem Veratramintremor erwiesen sich Myanesin und eine Reihe von Benzazol-Derivaten wie z. B. Benzimidazol, 2-Amino-benzthiazol und 2-Amino-5-chlorbenzoxazol; diese als Interneuronenblocker bezeichneten Produkte unterbinden im Bereich paralytischer Dosen bei Ratte und Maus die Veratraminerregung vollständig.

Der auffällige Antagonismus zwischen Veratramin einerseits und Myanesin sowie den Benzazol-Derivaten andererseits weist auf die an der Veratraminerregung beteiligten Mechanismen hin; denn nach Beobachtungen von Hennemann, Kaplan u. Unna; Funderburk, King, Domino u. Unna sowie King u. Unna werden Reize im Gebiet der Substantia reticularis, die den Partellarsehnenreflex an der Katze verstärken oder hemmen, durch die genannten Interneuronenblocker

spezifisch gehemmt. Diese Befunde legen die Vermutung nahe, daß Veratramin jene Anteile des Hirnstamms aktiviert, welche die Kontraktionsbereitschaft der Muskulatur — möglicherweise über die γ-Fasern — fördern.

Der hemmende Einfluß von Myanesin sowie der Benzazol-Derivate auf die Veratraminerregung muß dabei nicht allein im Hirnstamm erfolgen. Ebenso gut können diese Substanzen die vermehrten Erregungsabläufe im Rückenmark abfangen, da sie auch solche periphere Begünstigungsreflexe, die im Rückenmark umgeschaltet werden, beeinträchtigen.

Literatur

Funderburk, W. H., E. E. King, E. F. Domino and K. Unna: J. Pharmacol. a. Exper. Ther. **107**, 356 (1953). — Hennemann, E., A. Kaplan and K. Unna: J. Pharmacol. a. Exper. Ther. **97**, 331 (1949). — King, E., and K. Unna: J. Pharmacol. a. Exper. Ther. **111**, 293 (1954). — Krayer, O.: J. Pharmacol. a. Exper. Ther. **96**, 422 (1949). — Tanaka, K.: J. Pharmacol. a. Exper. Ther. **113**, 89 (1955).

Diskussion. H. Oettel (Ludwigshafen): Es wäre interessant zu erfahren, wie sich die Parkinson-Mittel gegen den Veratramin-Tremor verhalten. Vielleicht bietet die Methode eine Möglichkeit zur Prüfung von Stoffen, die den Alterstremor hemmen, bei dem die Parkinson-Mittel versagen. Interessant wäre auch am Veratramin-Tremor Valeriana zu prüfen, zumal die Baldrianwirkung bisher im Tierversuch nicht eindeutig bewiesen werden konnte. Wir haben selbst bei einem Hund, der einen — vielleicht durch Staupe bedingten — Tic besaß, eine deutliche Verlangsamung der Zuckungen durch Valeriana beobachten können. Vielleicht werden solche Tic-Bewegungen an gleicher Stelle ausgelöst wie der von Schoetensack beschriebene Tremor.

K. Soehring (Hamburg): Mit „Veratrin" kommen auch Zuckungen am isolierten Muskel, also peripher ausgelöst, in Betracht.

Schlußwort W. Schoetensack zu Oettel: Andere Parkinson-Mittel als Atropin wurden von uns nicht geprüft. Bereits 1—2 mg/kg Atropin unterbinden sowohl den Tremor als auch die durch Tremorin auslösbaren parasympathischen Reizerscheinungen. Der Veratramintremor bleibt jedoch selbst gegenüber höchsten Atropindosen von 200 mg/kg i.p. resistent; daher erscheint die Annahme berechtigt, daß sich der durch 1,2-Dipyrrolidin-2-butin ausgelöste Tremor hinsichtlich seiner Genese von dem durch Veratramin hervorgerufenem prinzipiell unterscheidet. Die von Ihnen beobachtete Baldrianwirkung erscheint interessant, diesbezügliche Untersuchungen an der Veratraminerregung wurden von uns nicht durchgeführt. Daß die beobachtete Myanesinwirkung mit dessen Einfluß auf das Rückenmark in Zusammenhang stehen kann wurde bereits erwähnt.

Zu Soehring: Veratramin führt im Gegensatz zu Veratridin und einigen anderen von uns geprüften Esteralkaloiden nicht zu der charakteristischen „Veratrinkontraktur", im Gegenteil vermag Veratramin ähnlich wie Chinin, Chinidin und eine Reihe von Digitalisglykosiden sowie Reserpin und Chlorpromazin die „Veratrinkontraktur" sowohl zu verhüten als auch aufzuheben.

K. Wallenfels und H. Sund (Freiburg/Br.): Zum Wirkungsmechanismus des Butazolidins: Hemmung DPN-abhängiger Zinkenzyme

Zellen und Gewebe können ihren normalen Stoffwechsel nur aufrechterhalten, wenn ihre energieliefernden dehydrierenden Prozesse ungestört ablaufen können. Soweit Näheres bekannt ist, sind die DPN-abhängigen* Dehydrogenasen Metallproteide, von denen einige zur Gruppe der Zinkenzyme gehören. Sie katalysieren die Umsetzung zwischen dem Coferment und dem Substrat dadurch, daß das Enzym-Zink als Koordinationszentrum DPN und Substrat zu einem gemischten Komplex anlagert, in dem dann die Umsetzung erfolgt. Komplexbildner wie Phenanthrolin, Dithizon oder Oxychinolin sind in der Lage, die freien Koordinationsstellen des Zinks, durch welche während des katalytischen Aktes Coferment und Substrat an das Ferment gebunden werden sollen, zu besetzen. Sie nehmen den Platz der Reaktionsteilnehmer ein und verhindern dadurch die enzymatische Reaktion. Zu der Gruppe solcher Hemmstoffe gehört neben Adenosin und Inosin auch das Butazolidin (1,2-Diphenyl-3-oxy-4-n-butyl-pyrazolon-5).

Die von uns untersuchten Enzyme (Alkoholdehydrogenase [ADH] aus Hefe und Leber sowie Glutaminsäuredehydrogenase aus Leber) können durch dieses Antiphlogisticum in ihrer Aktivität vollständig gehemmt werden. Die Hemmwirkung nimmt erheblich zu, wenn das Enzym mit dem Butazolidin einige Zeit inkubiert wird.

So wie das Butazolidin in der Lage ist, mit dem Ferment-Zink eine komplexe Bindung einzugehen, so vermag es auch mit freien Zinkionen einen Zinkkomplex zu bilden. Entsprechend der Zunahme der Stabilität dieses Zinkkomplexes mit steigenden p_H-Werten nimmt auch die Hemmwirkung des Butazolidins mit steigenden p_HWerten zu. Aus seiner komplexen Bindung an das Enzym kann es durch DPN wieder verdrängt werden, so daß auch das Ausmaß der erzielten Hemmwirkung abhängig ist von der DPN-Konzentration, in deren Gegenwart die Untersuchungen vorgenommen werden. Die Konkurrenz des Butazolidins mit dem DPN um die gleiche Stelle am Enzymprotein läßt sich eindrucksvoll durch Versuche mit der Ultrazentrifuge zeigen. Zentrifugiert man z. B. ADH in Gegenwart von DPN ab, so werden unter geeigneten Versuchsbedingungen 4—5 Mol DPN so fest gebunden, daß sie mit dem Ferment absinken. Durch Hemmstoffe wie 8-Aminochinolin, Inosin und auch Butazolidin, die die freien Koordinationsstellen des Zinks besetzen können, verliert das Enzym je nach Konzentration der Inhibitoren teilweise oder vollständig die Fähigkeit, DPN zu binden. Für diese Beobachtung, daß Butazolidin, Adenosin und Inosin in vitro als Hemmstoffe gleichsinnig wirken, gibt es eine Parallele bei der Anwendung

* DPN = Diphospho-pyridin-nucleotid, ADH = Alkoholdehydrogenase.

in vivo: Im Analgesietest an der Maus besteht in Kombination mit Pyramidon große Ähnlichkeit zwischen Butazolidin und den Purinkörpern[1,2].

In vitro hemmt das Butazolidin die untersuchten zinkhaltigen Dehydrogenasen in therapeutisch angewandten Konzentrationen und bei DPN-Konzentrationen, wie sie in der Zelle vorliegen. Wie hat man sich nun nach diesen Befunden die peripheren, antiphlogistischen Wirkungen des Butazolidins vorzustellen und wie gelangt es in das entzündete Gewebe, ohne das gesunde zu schädigen? Bei dem p_H-Wert des Plasmas von etwa 7,3 liegt das Butazolidin zum größten Teil an Albumin gebunden vor, eventuell frei vorhandenes entsprechend der Titrationskurve als Anion; unter diesen Bedingungen kann es so gut wie nicht in den intracellulären Raum gelangen. Anders liegen die Verhältnisse in dem entzündlichen Gewebe mit seinen wesentlich niederen p_H-Werten, die bis 5,5 heruntergehen können. Aus der Titrationskurve läßt sich berechnen, daß die Dissoziation des Komplexes zwischen Butazolidin und Zink bei etwa p_H 6,5 beginnt; bei gleichem p_H-Wert tritt eine merkliche Dissoziation des Albumin-Butazolidin-Komplexes auf, in dem das Butazolidin wahrscheinlich ebenfalls über Zink an das Albumin gebunden wird. Das hierbei entstehende freie Butazolidin liegt nicht mehr als Anion, sondern in der Hauptsache als ungeladene Molekel vor. Dieses wird, ohne eine bestehende Anionensperre passieren zu müssen[3], in den intracellulären Raum gelangen und dort seine Hemmwirkung auf die zinkhaltigen Dehydrogenasen entfalten können, während das gesunde Gewebe, dem Butazolidin in gleicher Konzentration angeboten wird, frei von Butazolidin bleibt. Die erhöhte Membrandurchlässigkeit wird zudem den Eintritt begünstigen. Das Butazolidin kann dann den erhöhten Stoffwechsel der betroffenen Gewebe über die zinkhaltigen Dehydrogenasen blockieren, damit den entzündlichen Prozeß hemmen und schließlich zum Erliegen bringen.

Literatur

[1] H. Giertz, H. Goebels u. W. Rummel: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **229**, 26 (1956). — [2] H. Giertz, u. I. Jurna: Pers. Mitteilung. — [3] Siehe dazu auch G. Sedlmayr, A. Kemnitz u. H. Holzer: Klin. Wschr. **1956**, 1114.

Diskussion. K. Lang (Mainz): Blutazolidin hemmt in einer Konzentration von 3 mg-% Glutaminsäuredehydrogenase in Rattenlebermitochondrien. Die entsprechende Dehydrogenase in Herzmuskelhomogenat oder das kristallisierte Enzym wird bei dieser Konzentration nicht gehemmt. Offensichtlich entsteht in der Leber, nicht aber in anderen Organen ein Stoffwechselprodukt des Butazolidins, das eine wesentlich stärkere Hemmwirkung entfaltet. Nach Vorinkubation einer Butazolidinlösung mit Lebermitochondrien wird krist. Glutaminsäuredehydrogenase ebenfalls schon bei wesentlich kleineren Konzentrationen gehemmt, als es bei unveränderter Butazolidin der Fall ist.

G. Rentsch (Magdeburg): Welche Unterschiede bestehen in der Stabilität der Zinkkomplexe mit üblichen Komplexbildnern, z. B. Dithizon und dem Butazolidin-Zn-Komplex?

H. Sund: Die Komplexe zwischen freien Zinkionen und den üblichen Komplexbildnern wie Phenanthrolin, Dithizon oder Oxychinolin sind wesentlich stärker, die Komplexbildungskonstanten liegen um einige Zehnerpotenzen höher. Diese Zinkkomplexbildner zeigen im Tierversuch erwartungsgemäß erhebliche Giftwirkung.

K. Wallenfels: Es wird auf ähnliche hemmende Wirkung von blutzuckersenkenden Sulfonamiden auf DPN^+-abhängige Zinkenzyme hingewiesen. Bei der Glutaminsäuredehydrogenase bewirkten D 860 und BZ 55 eine Hemmung in der Reaktionsrichtung $DPN^+ \rightarrow DPNH$, eine starke Aktivierung in der umgekehrten Richtung der Gleichgewichtsreaktion. Auch dem Butazolidin kommt eine gewisse blutzuckersenkende Wirkung zu.

O. Klingmüller (Hamburg): Durchlässigkeit der Cornea für verschiedene Arzneimittel

Obwohl man von manchen Arzneistoffen, die am Auge zur Anwendung kommen, weiß, daß sie durch die Cornea in das Kammerwasser eindringen, sind bisher relativ wenig Untersuchungen bekannt geworden, bei denen quantitative Bestimmungen der auf diesem Wege eingedrungenen Arzneistoffe durchgeführt worden sind.

Es wurde von uns das Eindringen von Stoffen in die Cornea und in das Kammerwasser von Meerschweinchenaugen auf folgende Weise untersucht:

Nachdem die Lösungen auf das Auge getropft waren, wurden die Meerschweinchen getötet, die Augen herauspräpariert und gut abgespült. Das Kammerwasser wurde durch Punktion mit einer feinen Kanüle entnommen. Die Cornea wurde abgeschnitten und meistens einfach mit salzsaurem Wasser eluiert. Die Bestimmung der Arzneistoffe wurde teils photometrisch nach Umsetzung zu Azofarbstoffen, teils spektrophotometrisch im UV-Bereich vorgenommen.

Es konnte gezeigt werden, daß Procain, Tutocain (Wz) und Tetracain mit Erniedrigung der Wasserstoffionenkonzentration im steigenden Maße eindringen. Dies Ergebnis stimmt mit der bekannten Tatsache überein, daß die anästhetische Wirksamkeit dieser Stoffklasse stark von dem Dissoziationsgrad abhängig ist.

Weitere Versuche ergaben, daß es leicht möglich ist, die Permeabilität der Meerschweinchencornea zu verändern. Es erfolgte entweder eine „Vorbehandlung" der Augen, oder es wurden die physikochemischen Bedingungen des Vehikels abgeändert. Schon geringe Mengen von Stoffen, die zur Keimfreihaltung von Augentropfen verwendet werden, ein Polyäthylenoxydäther, Tetracain, Säure oder Lauge und Alkohole erhöhen z. B. die Durchlässigkeit der Cornea, die hier hauptsächlich mit Procain und Sulfacetamid bestimmt wurde.

Man kann durch derartige Prüfungen objektiv feststellen, wieweit ein beliebiger Stoff die Cornea verändert. Nach unseren bisherigen Versuchen haben Veränderungen der Cornea meistens eine Zunahme der Permeation durch die Cornea in das Kammerwasser zur Folge.

Es ist ein strenger Unterschied zu machen zwischen Einflüssen, die ein Stoff auf die Cornea hat, und Einflüssen, die ein Stoff auf das Arzneimittel hat, mit dem die Durchlässigkeit bestimmt wird.

Diskussion. W. Schmid (Tübingen): Versuche an der isolierten Cornea sind von Herr (siehe Vortrag 49) mit Lokalanaesthetica angestellt worden. Aus seinen Ergebnissen geht hervor, daß bei der Beurteilung der Durchlässigkeit der Cornea 2 Vorgänge, nämlich Permeation durch das Gewebe und Haftung im Gewebe, zu berücksichtigen sind.

G. Urban (Berlin): Physostigmin tritt bei der Katze leicht durch die Cornea und erzeugt dann nach der Resorption Speichelfluß. Wenn *Procain* die Cornea durchdringt, wie ist dann seine schlechte lokalanaesthetische Wirkung am Auge, selbst bei 5—10%iger Konzentration, erklärbar?

F. Hauschild (Leipzig): Es wird gefragt, ob analoge Versuche auch am isolierten Auge durchgeführt wurden.

K. Soehring (Hamburg): Die Versuche sind unter anderem unter dem Gesichtspunkt einer praktisch brauchbaren Prüfung von Augentropfen durchgeführt.

Zu Urban: Die Durchlässigkeit der Cornea für Procain bedeutet nicht notwendig eine ausreichende lokalanalgetische Wirkung; hierfür muß die Haftfähigkeit mit herangezogen werden, die bei diesem Präparat nicht ausreicht.

A. Herz (München): Über Membranwirkungen nicht-ionogener Netzmittel

Inkubiert man Erythrocyten in Lösungen nicht-ionogener Netzmittel, so erfährt die osmotische Resistenz der roten Blutkörperchen unter Umständen eine beträchtliche Erhöhung. Diese Wirkung setzt schnell ein und bleibt dann über Stunden fast unverändert bestehen. Hämatokritbestimmungen zeigen, daß dieser Erhöhung der osmotischen Resistenz eine Vergrößerung des kritischen Hämolysevolumens der Zellen zugrunde liegt. Während z. B. im Falle normaler Pferdeerythrocyten die Hämolyse bei einer Hypotonie von etwa 0,65 beginnt — das Volumen der Zellen ist hierbei etwa um $^1/_3$ gegenüber dem Ausgangswert vergrößert — setzt nach Inkubation dieser Blutkörperchen in Lösungen von Dodecylalkohol die Hämolyse erst bei einer Hypotonie von etwa 0,3 ein; die Zellen erreichen dabei Volumina bis zum Doppelten des Wertes bei Isotonie. Nach Inkubation in Lösungen niedrigerer homologer Alkohole (C_8, C_{10}) kommt es beim Ansetzen der Resistenzreihen auch bei Isotonie zu teilweiser Hämolyse, obwohl die Erythrocyten vor dem Verdünnen nicht hämolysiert sind. Verhindert man jedoch eine Resorption

der Substanzen von der Membran, indem man den Alkohol auch der Verdünnungsreihe zufügt, so wird die Hämolyse weit zurückgedrängt und die osmotische Resistenz der Erythrocyten erweist sich als erhöht. Eine derartige Vereinigung hämolytischer und „antihämolytischer" Eigenschaften in derselben Substanz ist auch bei ionisierten Netzmitteln, z. B. den Alkylsulfaten und den Seifen nachweisbar. Überführt man die Fettsäuren durch Veresterung in nicht-ionogene Verbindungen (z. B. vom Typ der Tweens und Spans), so wird die hämolytische Wirksamkeit der Verbindungen stark abgeschwächt; dafür kommt die Fähigkeit zur Vergrößerung des kritischen Hämolysevolumens um so deutlicher zum Vorschein. In Reihen ähnlich gebauter Fettsäureester ist diese Wirkung um so stärker, je ausgeprägter die Lipophilie der betreffenden Verbindung ist.

Aus den Versuchen wird gefolgert, daß die Vergrößerung des kritischen Hämolysevolumens — zumindest teilweise — auf einer Erschwerung des Hämoglobinaustrittes aus der Erythrocytenmembran beruht. Während die unveränderte Membran roter Blutkörperchen schon bei geringfügiger Dehnung für Hämoglobin durchlässig wird, d. h. Hämolyse eintritt, können nach Einwirkung geeigneter Netzmittel und Emulgatoren ungleich größere Schwellungsvolumina erreicht werden, ohne daß die Zelle ihr Hämoglobin verliert. Die Erythrocytenmembran scheint dadurch dehnbar geworden zu sein. Gewisse Beobachtungen lassen es als denkbar erscheinen, daß durch die An- oder Einlagerung lipophiler Substanzen an oder in die Membran — wohl in Gestalt von Filmen — unter Umständen auch eine wirkliche Elastizitätserhöhung der Erythrocytenmembran eintritt.

Eine derartige Wirkung haben sowohl ionosierte wie auch nicht-ionogene Netzmittel und Emulgatoren mit überwiegend lipophilen Eigenschaften. Bei ersteren überdeckt jedoch meist stärkere Hämolyse eine solche „antihämolytische" Wirkung, so daß diese nur bei besonderer Versuchsanordnung deutlich wird. Bei den nicht-ionogenen Verbindungen läßt das Fehlen stärkerer Hämolyse eine derartige Membranveränderung ungleich deutlicher in Erscheinung treten.

Diskussion. O. Eichler (Heidelberg): Bereits Höber hatte mit Äther ähnliche Effekte nachweisen können. Er ging von der Porentheorie aus. Die Poren werden durch oberflächenaktive Substanzen verengert und hemmen Diffusionsvorgänge an Erythro.-membranen. Der Nachweis ist schwer.

K. Soehring (Hamburg): Die hämolytische und „antihämolytische" Wirkung von Netzmitteln erklären vielleicht die stark streuenden Befunde in der Literatur. Es wird an Hand von gemeinsam mit Stoeckenius gewonnenen elektronenmikroskopischen Bildern gezeigt, daß Thrombocyten einen 36 Std-Kontakt mit 10^{-4} g/cm^3 Thesit (W.Z.) ohne Strukturzerstörung vertragen, während die Hämolyse bereits bei 10^{-5} g/cm^3 einsetzt.

W. Kunz (Tübingen): Steroide beeinflussen die Hämolyseschwelle in gleicher Weise wie die von Herz untersuchten lipophilen Substanzen. Die auch hier deutliche Abhängigkeit der Wirkung von der Lipoidlöslichkeit der Derivate, der Verlauf der Dosis-Wirkungsbeziehung, sowie charakteristische Veränderungen der Permeabilitätseigenschaften der Zellmembran machen einen Reaktionsmechanismus wahrscheinlich, wie er von Seelich[1] in Modellversuchen über die Beeinflussung von Lipoid-Wasser-Grenzflächen durch Narkotica angenommen wurde.

Schlußwort A. Herz zu Soehring: Der Begriff der „Membranstabilisierung" kann nur mit Vorbehalt gebraucht werden. In orientierenden Untersuchungen hat sich nämlich gezeigt, daß der Erhöhung der osmotischen Resistenz durch unsere Substanzen keine entsprechende Erhöhung der mechanischen Resistenz entspricht.

Zu Kunz: Soweit Ihr kurzer Bericht eine Beurteilung zuläßt, scheint es, daß die Wirkung der verwendeten lipophilen Steroide ähnlicher Natur ist wie die der nicht-ionogenen Netzer.

Zu Eichler: Bei der Erhöhung der osmotischen Resistenz durch verschiedene Narkotica wie sie Höber gefunden hat, dürfte Salzverlust der Zellen von entscheidender Bedeutung sein.

F. Markwardt (Greifswald): Versuche zum Reaktionsmechanismus des Hirudins

Aus medizinischen Blutegeln haben wir ein hochmolekulares Polypeptid isoliert, welches den als Hirudin bezeichneten blutgerinnungshemmenden Wirkstoff darstellt. Dieser Stoff verhindert die Gerinnung des Blutes, indem er mit dem Gerinnungsferment Thrombin eine stöchiometrisch gut definierte Additionsverbindung bildet, wodurch die katalytische Wirkung des Thrombins auf das Fibrinogen zum Erlöschen gebracht wird.

Bei der Reaktion zwischen Hirudin und Thrombin, die zur sofortigen Blockade der Fermentwirkung führt, werden offenbar im Thrombinmolekül diejenigen Gruppen besetzt, die für die Thrombinwirkung entscheidend sind. Eine Umwandlung oder Blockierung dieser Gruppen mußte auch die Bindung des Hirudins an das Thrombin verhindern. Da wahrscheinlich insbesondere freie Aminogruppen im Fermenteiweiß für die Aktivität des Thrombins entscheidend sind, wurde zunächst der Einfluß eines Aminogruppenreagens auf die Bindungsfähigkeit des Thrombins mit Hirudin untersucht. Als Reagens wurde Formaldehyd gewählt, welcher unter bestimmten Reaktionsbedingungen mit Aminogruppen unter Bildung einer N-Methylen-Verbindung reagiert. Da diese Reaktion eine Gleichgewichtsreaktion ist und durch Dialyse gegen schwach saures Wasser zumindest teilweise reversibel gemacht werden kann, war Formaldehyd für unsere Zwecke besonders geeignet.

Das Thrombin verliert unter der Einwirkung von Formaldehyd seine coagulierende Aktivität. Im Laufe der Dialyse gegen schwach saures

[1] Seelich, F.: Erg. d. Physiol. **44**, 466 (1941).

Wasser gewinnt das Ferment den größten Teil seiner Ausgangsaktivität zurück. Gleichlaufend mit dem Verschwinden der Thrombinaktivität geht die Bindungsfähigkeit des Thrombins für Hirudin zurück und in dem gleichen Maße wie das Ferment seine Aktivität bei der Dialyse zurückgewinnt, können wieder steigende Mengen von Hirudin gebunden werden. Während der vorübergehenden Blockierung der Aminogruppen ist das Thrombin also nicht fähig, Hirudin zu binden.

Nach den Ergebnissen der Bausteinanalyse[1] besteht das Hirudin nur aus Aminosäuren. Als Wirkgruppen kommen also nur solche in Frage, die in den aufbauenden Aminosäuren enthalten sind. Danach hat man außer mit Carboxyl- und Aminogruppen mit den aliphatischen Hydroxylgruppen des Serins und Threonins, der phenolischen Hydroxyl-Gruppe des Tyrosins, der Imidazolgruppe des Histidins und der Disulfidgruppe des Cystins zu rechnen. Es wurden deshalb spezifische Reaktionen durchgeführt, um jeweils eine der in Betracht kommenden Gruppen zu blockieren oder chemisch zu verändern.

Die Acetylierung oder Formylierung der freien Aminogruppen und die Sulfurylierung der aliphatischen OH-Gruppen hatte keine Einbuße an Aktivität zur Folge. Die Behandlung des Hirudins mit salzsaurem Methanol, welche zur Veresterung der Carboxylgruppen führt, die Kupplung der phenolischen OH-Gruppen und Imidazolgruppen mit Diazoverbindungen und die Sprengung der Disulfidbindung verminderten dagegen die Aktivität.

Bei der Beurteilung der durch gruppenspezifische Reagentien bei Proteinen hervorgerufenen Wirkungen ist Vorsicht geboten, da die Gefahr einer unspezifischen irreversiblen Denaturierung während der Reaktion besteht. Besonderer Wert wurde daher auf die Reversibilität der durch die spezifische Blockierung einer Gruppe erreichten Inaktivierung gelegt. Bei der Veresterung der Carboxylgruppen, die eine Inaktivierung zur Folge hat, konnte dies dadurch deutlich gezeigt werden, daß bei der Spaltung des Esters durch schwaches Alkali allmählich auch das Hirudinmolekül seine Aktivität zurückgewinnt.

Da sowohl phenolische Hydroxylgruppen wie auch Imidazolgruppen mit Diazoverbindungen reagieren, läßt sich nicht entscheiden, welche der beiden Gruppen für die Aktivität des Hirudins erforderlich sind. Die besondere Bedeutung der phenolischen OH-Gruppen mußte somit noch auf andere Weise gesichert werden. Es kann sich nach der Bausteinanalyse nur um die OH-Gruppe des Tyrosins handeln. Das Hirudin wurde daher mit Tyrosinase behandelt, da dieses Ferment nicht nur freies Tyrosin angreift, sondern auch die Oxydation des Tyrosins in Peptidketten katalysiert. Für den Fall, daß die Tyrosylgruppe im

[1] Markwardt, F.: Z. physiol. Chem. **308**, 147 (1957).

Hirudinmolekül für die Bindung an das Thrombin notwendig ist, mußte eine fermentative Umwandlung dieser Gruppe einen Verlust der Aktivität des Antikoagulans zur Folge haben. Tatsächlich nimmt die blutgerinnungshemmende Aktivität des Hirudins unter der Behandlung mit Tyrosinase ab.

Für das Zusammentreten des Hirudinmoleküls mit dem Thrombinmolekül sind also am Hirudin außer der Disulfidbindung freie Carboxyl- sowie phenolische Hydroxylgruppen und am Thrombin Aminogruppen von entscheidender Bedeutung. Die erwähnten polaren Gruppen scheinen die Bildung des Assoziationskomplexes zwischen Hirudin und Thrombin zu ermöglichen, bei welcher die Thrombinwirkung erlischt. Aus dem geringen Dissoziationsgrad des Hirudin-Thrombin-Assoziates kann man auf hohe Assoziationsenergien schließen. Wir müssen daher annehmen, daß bei der Komplexbildung zwischen Hirudin und Thrombin mehrere Gruppen der Moleküle an der Reaktion beteiligt sind, die räumlich so angeordnet sein müssen, daß alle in Frage kommenden Gruppen sich auf denjenigen Abstand nahekommen können, der dem Minimum an potentieller Energie entspricht. Mit anderen Worten: Der assoziierende Bezirk des Hirudins muß auf den assoziierenden Bezirk des Thrombins mit gleicher Genauigkeit passen wie ein Relief auf sein Negativ. Es leuchtet mit Hilfe dieses Bildes ein, daß durch geringe chemische Veränderungen der bindenden Gruppen das Zusammentreten der beiden Moleküle verhindert werden muß.

Diskussion. H. Sund (Freiburg/Br.): Ein besonders spezifisches und einfaches Reagens für phenolische Hydroxylgruppen sind Berylliumionen, da sie mit den anderen funktionellen Gruppen, die in Proteinen vorkommen können, praktisch nicht reagieren.

K. Flemming (Greifswald): Untersuchungen über Schutzstoffe gegen Röntgenstrahlen bei Erythrocyten

Mit 1 Textabbildung

Zwei wichtige Faktoren bei den biologischen Wirkungen der Röntgenstrahlen sind die Wachstumshemmung und die Erhöhung der Zellpermeabilität. Zahlreiche Untersuchungen der letzten Jahre zeigen, daß die hemmende Wirkung der Röntgenstrahlen auf das Wachstum durch Strahlenschutzstoffe vermindert werden kann. Ich konnte vor kurzem an Erythrocyten zeigen, daß auch der andere Faktor, die Zellpermeabilität, vor der Röntgenstrahlenwirkung geschützt werden kann. Cystein hemmt die Röntgenhämolyse (Abb. 1), die ihr vorangehende Erythrocytenschwellung und den prolytischen Kationenaustausch. Als wahrscheinliche Ursache der Schutzwirkung des Cysteins kann seine auf der SH-Gruppe

beruhende reduzierende Eigenschaft angenommen werden. Dafür sprach auch die gute Schutzwirkung anderer reduzierender Stoffe wie Ascorbinsäure und Homocystein. Ein schwacher, aber immerhin deutlicher Schutz wurde ebenfalls durch die dem Cystein entsprechende nicht SH-haltige Verbindung, das Alanin, in gleicher Konzentration ausgeübt. Das ließ schon vermuten, daß andere Eigenschaften für die Schutzwirkung maßgebend sein können. Ich verglich deshalb weitere reduzierende und nichtreduzierende Stoffe miteinander.

Die Versuche wurden an Erythrocytensuspensionen vorgenommen. Diese wurden nach Zusatz der zu prüfenden Stoffe in gepufferter isotonischer Kochsalzlösung (p_H 7,4) bei Zimmertemperatur bestrahlt und anschließend bis zur Messung im Kühlschrank bei + 4°C aufbewahrt. Nach 48—96 Std wurden die Erythrocyten abzentrifugiert und die überstehende Lösung farbphotographiert oder ihre Farbintensität photometrisch bestimmt.

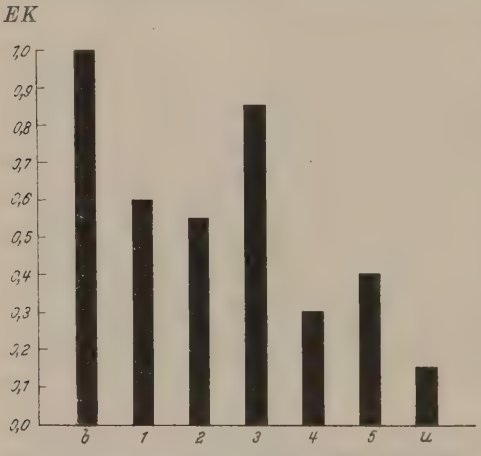


Abb. 1. Hemmung der Röntgenhämolyse (Mittelwerte) *EK* Extinktionskoeffizient der überstehenden Lösung (nach Umwandlung des Hämoglobins in salzsaures Hämatin). *b* bestrahlt, *1* bestrahlt, mit Cystein, *2* bestrahlt, mit Hydroxylamin, Hydrazin, *3* bestrahlt, mit aliphat. Aminen und Aminosäuren *4* bestrahlt, mit cyclischen Aminen und Aminosäuren, *5* bestrahlt, mit Phenol, *u* unbestrahlt

Zunächst untersuchte ich 2 weitere reduzierende Verbindungen, das Hydroxylamin und das Hydrazin. Ihre Schutzwirkung war stark. Sie lag im Bereich der des Cysteins (Abb. 1).

Der Amincharakter dieser Stoffe veranlaßte mich, andere, nichtreduzierende Amine zu untersuchen. Methyl-, Äthyl- und Propylamin hatten eine deutliche, aber größenordnungsmäßig schwächere Schutzwirkung. Sie entsprach nur ungefähr der des Alanins und ferner der Aminosäuren Glykokoll, Valin und Asparagin, die ich ebenfalls untersuchte. Daraus geht hervor, daß die Aminogruppe an Bedeutung für die Schutzeigenschaft weit hinter dem Reduktionsvermögen zurücksteht.

Zu ganz anderen Ergebnissen kam ich dagegen beim Phenylalanin, Tyrosin und Tyramin, die eine benzoide Ringverbindung enthalten, und beim Histidin, Histamin und Tryptophan, die einen heterocyclischen Ring besitzen. Diese Stoffe haben keine merkliche Reduktionswirkung Trotzdem schützten sie stärker als alle bisher untersuchten reduzierenden Stoffe. Es muß daher angenommen werden, daß die Ursache der starken Schutzwirkung an die genannten Ringsysteme gebunden ist. Dies

bestätigte sich weiterhin bei der Prüfung des Phenols und der Benzoesäure, die besonders einfach gebaute Körper dieser Stoffklasse darstellen.

Die vorgetragenen Ergebnisse stehen in Beziehung zur Theorie der Schutzstoffwirkung. Wenn man, wofür auch heute noch viel spricht, den chemischen Grundvorgang bei den Strahlenwirkungen als eine Photooxydation auffaßt, wie es Walter Straub beim Licht vor 50 Jahren getan hat, so ist leicht verständlich, daß starke Reduktionsmittel diesen Vorgang hemmen. Die vorgetragenen Versuche zeigen aber, daß bei einer so einfachen Auffassung der Schutzwirkungen Vorsicht geboten ist. Sie weisen die Bedeutung ganz anderer Eigenschaften für den Strahlenschutz nach, die in ihrem Wirkungsmechanismus bisher zwar ungeklärt sind und wahrscheinlich einer so einfachen Erklärung nicht zugänglich sein werden, die aber allem Anschein nach mit unmittelbaren Reduktionswirkungen nichts zu tun haben.

Diskussion. O. Eichler (Heidelberg): Bacq hat verschiedene gemeinsame Eigenschaften bei der Schutzwirkung herausgestellt, z. B. die Komplexbildung mit Schwermetallen. Gibt es hier irgendwelche Beziehungen?

Schlußwort K. Flemming ad 1: In den Versuchen wurde die Schutzwirkung äquimolarer Konzentrationen der geprüften Substanzen miteinander verglichen.

ad 2: Der Gedanke von Bacq, daß die Strahlenschutzwirkung mancher Amine auf Komplexbildung beruhen könne, liegt auch bei den von mir geprüften Stoffen nahe; Komplex- und Innenkomplexbildung durch Amine und Aminosäuren werden zunehmend bekannt. Von Langendorff, Koch u. Hagen wurde Komplexbildung auch für die Schutzwirkung des (SH-haltigen) Thioharnstoffs (Isothioharnstoff) in Erwägung gezogen. — Man könnte sich denken, daß nicht nur die Oxydation im Schutzstoff vorhandener, sondern auch die von zell- und gewebseigenen SH-Gruppen gehemmt wird, wenn Schwermetallionen, die diesen Vorgang katalysieren, durch Komplexbildung gebunden werden. Der Befund von Alexander, Bacq u. Mitarb., daß radiochemische Reaktionen bei Abwesenheit von Kupferspuren nicht verändert werden, spricht jedoch gegen eine Erklärung der Schutzstoffwirkung durch Komplexbildung. Die genannten Autoren glauben, daß die Struktur, die die Komplexbildung begünstigt, dieselbe ist, die den Strahlenschutz bewirkt.

R. Koch (Heiligenberg/Baden): Cancerogene als Sensibilisatoren bei röntgenbestrahlten Tieren

Mit 1 Textabbildung

Im Rahmen ausgedehnter Untersuchungen über die Strahlenschutzwirkung organischer Substanzen begegneten uns eine Reihe von Körpern, die bei Tieren vor einer Röntgentotalbestrahlung appliziert, eine größere Strahlenempfindlichkeit hervorriefen. Es handelte sich in den meisten Fällen um echte Sensibilisierungseffekte und nicht um eine einfache Summierung toxischer Wirkungen. Die bisher gefundenen Sensibilisatoren konnten in mehrere Klassen eingeteilt werden:

1. Nahe Verwandte von Sulfhydrylschutzkörpern, wie z. B. β-Homocystein, Isocystein und d-Penicillamin (Langendorff u. Koch).

2. Farbstoffe, wie z. B. Methylenblau, Fluorescein und Syntobiase.

3. Steroide, so unter anderem Testosteron, Methylandrostendiol, Dehydroandrosteron und Cholesterin (Koch).

4. Vitamine, wie z. B. das Vitamin K-Derivat „Synkavit" und ähnliche Körper (Mitchell u. Mitarb.), Aneurin-diphosphat und Lactoflavin-5-phosphat (Langendorff, Koch u. Hagen).

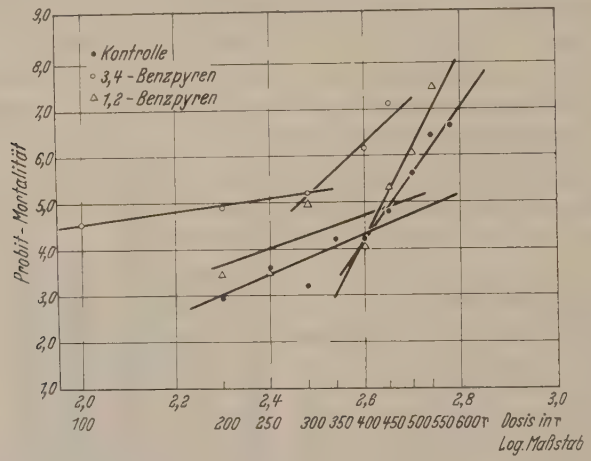


Abb. 1. Dosis-Mortalitätskurve in probitlogarithmischem Raster (Einzelheiten s. Text)

Das Auftreten einer Sensibilisierung nach Applikation der unter 2.—4. genannten Körper ist Veranlassung für weitere Untersuchungen im Bereich cancerogener Substanzen. Legt man die Gültigkeit photochemischer Reaktionen, wie sie von Schenck interpretiert werden, auch für radiobiologische Vorgänge zugrunde, so müssen cancerogene Stoffe sensibilisierende Eigenschaften besitzen. An Hand des Beispiels von 3,4-Benzpyren und 1,2-Benzpyren kann für die Richtigkeit der Überlegungen der Beweis erbracht werden.

Es wurden mit einem Gesamtmaterial von 1128 Ratten eines institutseigenen Inzuchtstammes Dosis-Effektkurven über einen Bereich von 100—600 r aufgenommen. Die Tiere erhielten eine Gesamtkörperbestrahlung unter folgenden Bestrahlungsbedingungen: 150 kV, 20 mA, 0,5 mm Cu mit einer HWS = 0,87 mm Cu, Dosisleistung 120 r/min bei einem Abstand Fokus-Tier von 30 cm. Es bestand eine totale Bleiabschirmung, so daß keine Rückstreuung erfolgte. Die Kontrollen erhielten in den einzelnen Kollektiven: 200, 250, 300, 350, 400, 450, 500, 550 und 600 r. Die 3,4-Benzpyren- und 1,2-Benzpyren-Tiere bekamen

3 Tage vor der Bestrahlung 10 mg Substanz/120 g Ratte 2,5%ig in Olivenöl gelöst subcutan. Die Bestrahlung erfolgte in jedem Fall 3 Tage später, beim 3,4-Benzpyren mit Dosen von 100, 200, 300, 400 und 450 r und beim 1,2-Benzpyren mit 200, 250, 300, 400, 450, 500 und 550 r. Die Ergebnisse wurden einer Probit-Analyse unterzogen und die gefundenen Regressionslinien in ein Probit-logarithmisches Raster eingezeichnet, wie es in Abb. 1 dargestellt ist.

Es zeigte sich zunächst, daß sich die gefundenen Werte nicht in einer einheitlichen Regressionslinie darstellen ließen, vielmehr die Dosis-Wirkungskurve aus 2 Komponenten bestand. Im einzelnen ergab sich für

die Kontrolle: steile Komponente $y = 14{,}43x - 33{,}40$, DL 50 = 458 r
flache Komponente $y = 4{,}22x - 6{,}67$, DL 50 = 582 r
1,2-Benzpyren: steile Komponente $y = 20{,}47x - 49{,}11$, DL 50 = 440 r
flache Komponente $y = 3{,}36x - 4{,}05$, DL 50 = 494 r

Zwischen den beiden Komponenten der Kontrolle und der 1,2-Benzpyren-Reihe besteht keine gesicherte Differenz und entsprechend auch nicht zwischen den DL 50-Werten ($P_{\text{steile Komponente}}$ für DL 50 und Regressionskoeff. = 0,1; $P_{\text{flache Komponente}}$ für DL 50 und Regressionskoeff. = 0,8).

3,4-Benzpyren: steile Komponente $y = 9{,}49x - 18{,}39$, DL 50 = 292 r
flache Komponente $y = 1{,}34x - 1{,}87$, DL 50 = 216 r

Der Unterschied aller Anteile der 3,4-Benzpyren-Reihe zur Kontrolle ist hoch gesichert ($P = < 0{,}001$). Auch die Unterschiede zwischen den flachen und steilen Komponenten der einzelnen Dosis-Effektkurven verhalten sich genau so ($P = < 0{,}001$).

Während also das nichtcancerogene 1,2-Benzpyren in allen Strahlendosenbereichen ohne Einfluß auf das Dosis-Wirkungsverhältnis ist, zeigt sich nach Vorbehandlung mit dem cancerogenen 3,4-Benzpyren eine erhebliche Sensibilisierung. Dieselbe drückt sich dabei im unteren Dosisbereich am stärksten aus. Während nach einer Bestrahlung mit 100 r kaum noch ein Kontrolltier stirbt, gehen im entsprechenden 3,4-Benzpyren-Kollektiv noch annähernd 50% zugrunde.

Die gewonnenen Dosis-Wirkungskurven erlauben auf Grund ihres zusammengesetzten Charakters einige weitere Aussagen. Der Sensibilisierungsfaktor nach den DL 50-Werten der Kontrolle und der 3,4-Benzpyren-Reihe berechnet, beträgt für die steile Komponente 1,57 und für die flache 2,69. Der Sensibilisierungseffekt ist also bei der flachen Komponente ausgeprägter als bei der steilen. — Wir können heute noch keine sicheren Aussagen über die Natur der Vorgänge machen, die diese beiden Komponenten bedingen. Im Vergleich mit der zeitlichen Absterbeordnung röntgentotalbestrahlter Tiere, gehen wir aber sicherlich nicht fehl, wenn wir für die steile Komponente die Veränderungen im Knochenmark verantwortlich machen, während in der flachen der Tod durch Summation

verschiedener Schädlichkeiten bedingt ist: Störungen im Bereich des Digestionstraktes, des lymphatischen und reticulo-endothelialen Systems und dadurch ausgelöste Infektionen. — Der Sensibilisierungseffekt nach 3,4-Benzpyren betrifft also sowohl die Strahlenschädigung des Knochenmarks als auch besonders alle jene Schäden, die den Strahlentod im niedrigen Dosenbereich bedingen. Die Wirkungslosigkeit des 1,2-Benzpyrens bestätigt, daß offenbar nur cancerogene Kohlenwasserstoffe in der Lage sind, eine Sensibilisierung auszulösen.

Literatur

Koch, R.: Bisher unveröffentlichte Versuche. — Langendorff, H., u. R. Koch: Strahlenther. **99**, 567 (1956). — Langendorff, H., R. Koch u. U. Hagen: Strahlenther. **99**, 375 (1956). — Mitchell, J. S., and I. Simon-Reuss: Brit. J. Canc. **6**, 305 u. 317 (1952). — Mitchell, J. S.: Radiobiology Symposium 1954, p. 170, Butterworths Scient. Publ. London 1955. — Schenck, G. O.: Naturwissenschaften **43**, 71 (1956).

W. Kunz (Tübingen): Die Wirkung von N-Sulfanilyl-N-Butylcarbamid auf Stoffwechsel und Wachstum von Transplantationstumoren

Ausgangspunkt der vorliegenden Untersuchungen waren zwei Ergebnisse, die bei Arbeiten über den Energiestoffwechsel der Ascitestumorzelle gewonnen worden waren. Sie hatten gezeigt, daß die Tumorzelle bereits für die Gewinnung der minimalen Erhaltungsenergie die energetische Leistung der Glykolyse benötigt und daß die Bildung von Glykolyseenergie in vivo nicht durch die Stoffwechselaktivität der Zelle, sondern durch die Substratversorgung seitens des Gesamtorganismus limitiert wird. Diese Befunde ließen den Versuch aussichtsreich erscheinen, durch Senkung des Blutzuckerspiegels beim Wirtstier die Energieversorgung der Tumorzellen kritisch herabzusetzen und dadurch auf ihr Wachstum einzuwirken.

Zur experimentellen Prüfung wurde der Einfluß blutzuckersenkender Substanzen auf das Wachstum des Ehrlich-Ascitestumor, des soliden Ehrlich-Ca, des Walker-Carcinoms und des Yoshida-Sarkoms der Ratte untersucht. Insulin (Depotinsulin, Hoechst) war in allen Versuchen ohne eindeutige Wirkung. Eine regelmäßige Hemmung des Tumorwachstums konnte dagegen mit N-Sulfanilyl-N-Butylharnstoff (Invenol) erzielt werden. Die Wirkung zeigte sich in verschiedenem Ausmaß bei allen untersuchten Geschwulstarten (Tab. 1). Sie war am ausgeprägtesten bei Tumoren mit hoher Wachstumstendenz. Neben der Verminderung der Tumorgröße fand sich bei soliden Geschwülsten regelmäßig eine erhebliche Verbreiterung der nekrotischen Innenzone.

Der Mechanismus der cytostatischen Wirksamkeit des Sulfanilylbutylcarbamids konnte nicht eindeutig geklärt werden.

Eine direkte Wirkung auf den Energiestoffwechsel der Tumorzelle konnte sicher ausgeschlossen werden. Atmung, Glykolyse und Crabtreereaktion wurden bei Asciteszellen in vitro durch 10^{-3} g/ml Invenol nicht beeinflußt. Der Aufbau von ATP und Hexosephosphatestern in den Zellen war nicht gehemmt.

Tabelle 1

Tumor	Tiere	Tumorgewicht in g		Hemmung in %
		Kontrolle	Invenol 500 mg/kg	
Ascitestumor	58	10,9 ± 2,0	3,7 ± 2,33	—66
Ehrlich-Ca	20	1,19 ± 0,6	0,72 ± 0,5	—39
Walker-Ca	20	23,3 ± 4,4	8,06 ± 2,75	—63
Yoshida-Sarkom. . . . . Ascitesform	20	7,63	1,25	—83
Yoshida-Sarkom. . . . . solider Tumor	16	8,05 ± 2,5	2,9 ± 1,1	—64

Eine direkte Beeinflussung der Zellteilung durch die Sulfanilamidkomponente der Verbindung ist unwahrscheinlich. Andere Sulfonamide (Sulfisoxazol) waren in vergleichbarer Dosierung im Tumorwachstumsversuch wirkungslos.

Eine sichere Aussage über die Bedeutung des einleitend diskutierten Wirkungsprinzips für den cytostatischen Effekt ist auf Grund der bisherigen Ergebnisse nicht möglich. Weitere Untersuchungen sollen diese Frage klären.

W. Schmid (Tübingen): Zur Frage der Normalisierung des Tumorstoffwechsels durch Glykolysegifte

Als durchschnittlicher Gesamtadenylsäure-Bestand wurde bei der Mäuse-Ascitestumorzelle 1,5 mMol/100 g Trockengewicht gefunden. Daraus und durch Errechnung des Umsatzes von energiereichem Phosphat pro 100 g Trockensubstanz und 60 min (aus $Q^{O_2} = 4{,}29$ und $Q^{M}_{O_2} = 24{,}0$) wurde als einmalige Umlaufzeit des Bestandes etwa 30 sec bestimmt. Bei der Milchsäureatmung wird der ATP-Bestand der Asciteszellen nicht gehalten, sondern es wird mehr ab- als aufgebaut. Bei Unterschreiten eines ATP-Gehaltes von etwa 0,5 mMol/100 g Trockensubstanz sinkt die Atmung ab. Da sich außerdem zeigen läßt, daß bei frischen Ascitespunktaten der Q^{O_2} abhängig vom ATP-Gehalt der Zellen ist, ergibt sich der Schluß, daß ATP auf die Atmung eine steuernde Funktion ausübt.

Stellt man im Stoffwechselversuch (Warburg-Methode) von der Milchsäureatmung durch Zugabe von Glucose auf „vollen" Stoffwechsel um, so kommt es nach der papierchromatographischen Analyse von

Adenylsäuren und Hexoseestern schon nach 30 sec zur Bildung größerer Mengen von Fructose-6-Phosphat und Fructose-1,6-Phosphat, die den in dieser Zeit möglichen Aufbau von ATP übersteigen (Tab. 1). Infolge der daraus resultierenden Abnahme der ATP sinkt die Atmung rasch ab und

Tabelle 1

ATP-Bestand zu Beginn des Versuchs	0,85 mMol/100 g Tr.S.
ATP-Bestand 30 sec nach Glucosezugabe (= 1 ATP-Umlauf)	0,76 mMol/100 g Tr.S.
Neugebildete Hexose-Ester nach 30 sec	0,935 mMol/100 g Tr.S.
ATP-Verlust in 30 sec	0,09 mMol/100 g Tr.S.
Mehrbildung von Hexose-Estern über den Ausgangs-ATP-Bestand hinaus	0,085 mMol/100 g Tr.S.

spielt sich erst mit dem Neuaufbau von ATP, der durch die nunmehr einsetzende aerobe Glykolyse ermöglicht wird, auf ein neues, gegenüber der Milchsäureatmung um 30—50% niedrigeres Niveau ein. Bei der Ascites-Tumorzelle besteht demnach zwischen der die Glykolyse einleitenden Hexokinasereaktion, die ATP erfordert, und der Atmung, die ebenfalls von der ATP abhängig ist, eine Konkurrenz, bei der das Gleichgewicht stark auf die Seite der Hexokinase-Reaktion verschoben ist.

Den gleichen Glucose-Effekt zeigen Hefezellen (Bäckerhefe) und Erythrocyten. Er ist bei der quergestreiften Muskelzelle (Mäusezwerchfell) nicht vorhanden.

Die Konkurrenz um die ATP bleibt auch bestehen, wenn die Glykolyse an Reaktionen blockiert wird, die auf die Hexokinasereaktion folgen. Jodacetat (m/1000) führt deshalb bei Anwesenheit von Glucose unter Anhäufung von Hexose- und Triosephosphaten zu einem fast völligen Aufbrauch von ATP, der den Tod der Zellen zur Folge hat. Ein ganz ähnlicher Wirkungstyp wurde bei dem Benzochinonderivat E 39 beobachtet.

Diskussion. O. Eichler (Heidelberg): Holtzer will die Cytostase auf eine Blockade der Hexokinase zurückführen. Das scheint nicht ganz mit seinen Befunden übereinzustimmen, indem er Hemmungskörper vom Dibenamintyp bei seinem Fermentsystem wirksam fand, obwohl sie nicht cytostatisch wirken.

K. Repke (Berlin-Buch): Repke meint, daß neben der Triosephosphat-Deyhdrogenase auch andere SH-Fermente durch Monojodessigsäure blockiert werden und fragt daher den Vortragenden, inwieweit er die Spezifität der Jodessigsäure-Wirkung hat kontrollieren können.

Schlußwort W. Schmid zu Eichler: Es war nicht beabsichtigt, durch den Vortrag eine neue Methode zum Screening von Cytostatica zu empfehlen, sondern es sollten die prinzipiellen Angriffsmöglichkeiten für solche Substanzen diskutiert werden.

Zu Repke: Daß bei den verwendeten Jodacetat-Konzentrationen nur die Glykolyse blockiert wurde, ohne daß die Atmung geschädigt war, läßt sich dadurch nachweisen, daß der Q_{O_2} bei den unbeeinflußten Kontrollzellen und den mit Jodacetat behandelten Zellen gleich groß war.

H. Frohberg (Halle): Physikalisch-chemische Beeinflussung von Tumorzellen

Eine große Zahl tierischer Impfgeschwülste läßt sich durch intraperitoneale Impfung solider Tumorpartikel sofort in die Ascitesform überführen. Bei einem anderen Teil gelingt die Umwandlung nur durch Einschaltung mehrerer intraperitonealer Passagen. Im Verlauf derselben nimmt die Ascitesmenge ständig zu, und das Wachstum des soliden Geschwulstanteiles wird zurückgedrängt. Eine 3. Gruppe von Impfgeschwülsten läßt sich nicht in die Ascitesform überführen.

Die Umwandlung einer solid wachsenden Geschwulst in die Ascitesform geht wahrscheinlich mit einer Änderung der Eigenschaften der Tumorzellen einher. Diese Änderung könnte auf einem Anpassungsprozeß an die neue Umgebung, oder nach Klein[5] auf einem Selektionsvorgang beruhen. Somit ist es möglich, daß die Asciteszellen gegenüber Einflüssen in vitro anders reagieren als Tumorzellen aus dem Gewebsverband.

Wir prüften die Empfindlichkeit beider Zellarten gegenüber kurzwelligen Strahlen, Tiefkühlung, Überwärmung und anisotonischen Lösungen. Es wurde hierfür das polymorphzellige Sarkom S_2 der Maus verwandt. Dieses Sarkom ließ sich durch intraperitoneale Impfung sofort in die Ascitesform überführen.

Bei allen Versuchen mit Asciteszellen wurde die Ascitesflüssigkeit durch Zentrifugation entfernt und die Zellen mehrmals mit Ringer-Lösung ausgewaschen.

Ringer-Zellsuspensionen des soliden Tumors und Ascites-Ringer-Zellsuspensionen wurden in einer Schichtdicke von 1 mm in einem Abstand von 50 cm mit einem S 500-Hochdruckbrenner, Original Hanau, verschieden lange Zeiten unter Luftkühlung in abgeschlossenen Quarzküvetten bestrahlt und anschließend intramuskulär bzw. intraperitoneal auf Mäuse verimpft. Ringer-Zellsuspensionen des soliden Sarkoms konnten nur nach 3 min langer UV-Bestrahlung erfolgreich auf Mäuse übertragen werden, während die Asciteszellen noch nach 480 min langer Bestrahlung ihre geschwulstauslösende Wirkung nach Rückimpfung aufs Tier nicht verloren. Somit ist die S_2-Asciteszelle 160mal so resistent gegenüber UV-Licht wie die Zellen der gleichen soliden Geschwulst.

Nach Kaplan[4] sind Zellen mit höherem Wassergehalt empfindlicher gegen Röntgenstrahlen und resistenter gegen UV-Strahlen. Ob ein anderer Hydratationsgrad der Asciteszellen für die größere Widerstandskraft gegen ultraviolettes Licht verantwortlich zu machen ist, bedarf noch der experimentellen Prüfung.

193 Tage bei —30° C tiefgekühlte linsengroße Stücke des soliden Tumors ergaben nach Rückimpfung aufs Tier noch typische S_2-Sarkome. Die Tiefkühlgrenze ausgewaschener Asciteszellen lag bei 235 Tagen.

Die Empfindlichkeit gegenüber hohen Temperaturen (+ 37° bis + 56° C) ist für Zellen aus dem Gewebsverband und für Asciteszellen weitgehend gleich. Beide Geschwulstzellarten behielten nach 1stündigem Aufenthalt bei +43° C und viertelstündigem Aufenthalt bei + 50° C ihre Virulenz. Der geringe Unterschied in der Wärmeempfindlichkeit beider Zelltypen in Höhe der Eiweißkoagulationstemperatur ist nicht signifikant.

Tabelle 1

Art der Einwirkung	Angehgrenzen der S_2-Zellen aus Tumor	
	solidem	Ascites
UV—HD	3 min	480 min
+43° C	60 min	60 min
+45° C	30 min	30 min
+50° C	15 min	15 min
+56° C	0 min	10 min
—30° C	193 Tage	235 Tage

Weiterhin bewahrten wir Zellaufschwemmungen von Asciteszellen und Zellen aus dem Gewebsverband verschieden lange Zeiten in destilliertem Wasser, 5%iger Kochsalz-, 30%iger Glucose- und in Ringer-Lösung bei —30°, —20°, —10°, +2° bis +4° C und bei Körpertemperatur auf.

Die Zellen des soliden Sarkoms verloren in destilliertem Wasser rasch ihre Geschwulsterzeugungsfähigkeit. Die Asciteszellen blieben dagegen mehrere Stunden virulent: bei —30° und —20° C 24 Std und bei —10° C sogar 48 Std. 192 Std bei +2° C aufbewahrte Asciteszellen ergaben nach Impfung aufs Tier noch typische Ascitesgeschwülste. Länger als 3 Std bei Körpertemperatur in destilliertem Wasser aufbewahrte Asciteszellen gingen nach Rückimpfung aufs Tier nicht mehr an.

Tabelle 2

	Angehgrenzen in Stunden									
	— 30°		— 20°		— 10°		+ 2 bis + 4°		+ 37°	
	S	A	S	A	S	A	S	A	S	A
Aqua dest. . . .	<1	24	<1	24	<1	48	3	192	<1	3
NaCl(5%ig) . .	3	12	3	12	6	24	24	48	1	1
Glucose (30%ig)	3	24	6	24	6	48	6	48	1	1
Ringer-Lösung .	3	48	3	48	6	48	96	192	6	6

S = Zellen aus solidem Tumor; A = Ascitestumorzellen.

Bei —30° und —20° C aufbewahrte Zellaufschwemmungen benötigten längere Zeit zur Auftauung als gleich viel Stunden bei —10° C gehaltene Suspensionen. Da für das Überleben tiefgekühlten Tumorgewebes nach

Luhet u. Gehenio[6], Craigie[1,2] und unseren Untersuchungen[3,7] der Einfrier- und besonders der Auftauprozeß von entscheidender Bedeutung sind, ist anzunehmen, daß die Zellschädigung mit Verlängerung des Auftauvorganges anwächst.

In den Versuchen mit hypertonischen Lösungen nahm die Stärke der Zellschädigung gleichfalls mit Verlängerung des Auftauvorganges zu. Während in Glucoselösung bei —10° aufbewahrte Ascitessarkomzellen noch nach 48 Std bzw. Zellen des soliden Tumors nach 6 Std erfolgreich auf Mäuse verimpft wurden, betrug die Angehgrenze nach Aufenthalt bei —30° und —20° C 24 bzw. 3 oder 6 Std. Ungünstiger als 30%ige Glucoselösung erwies sich die etwa den gleichen osmotischen Druck ausübende 5%ige Kochsalzlösung. In Ringer-Lösung wurden die Asciteszellen am wenigsten geschädigt, denn selbst nach 48 stündigem Aufenthalt bei —30° C verloren sie ihre Virulenz nicht.

Auch in diesen Versuchen wurde die größere Widerstandsfähigkeit der Asciteszelle deutlich.

Bei Körpertemperatur blieben hingegen beide Zellarten in Kochsalz- und Glucoselösung nur 1 Std, in Ringer-Lösung 6 Std virulent.

Das solide S_2-Sarkom und seine Ascitesform sprach auf die uns zur Verfügung stehenden cytostatisch wirksamen Verbindungen (N-Oxyd-Lost und Äthyleniminochinonverbindungen) nicht an. Daher konnten keine Versuche hinsichtlich der Empfindlichkeit beider Zelltypen gegen carcinolytische Substanzen durchgeführt werden.

Zusammengefaßt kann gesagt werden:

1. S_2-Asciteszellen sind gegenüber UV-Hochdruck und in geringem Maße auch gegenüber tiefen Temperaturen (—30° C) resistenter als Zellen des soliden Sarkoms.

2. Asciteszellen werden durch Aufbewahrung in iso- und anisotonischen Lösungen bei tiefen Temperaturen nicht so schnell und stark geschädigt wie die Sarkomzellen aus dem Gewebsverband.

3. Tumorzellen aus dem Gewebsverband sind gegen Quellung empfindlicher als gegen Entquellung.

4. Bei allen geprüften Temperaturen wurden die Geschwulstelemente in isotonischen Lösungen am wenigsten geschädigt.

5. Bei Körper- und höheren Temperaturen ist die Empfindlichkeit beider Zellarten gegen iso- und anisotonische Lösungen etwa gleich. Dies ist wahrscheinlich auf die bei diesen Temperaturen schneller ablaufenden Quellungs-, Entquellungs- und Stoffwechselvorgänge sowie eine rascher einsetzende Autolyse zurückzuführen.

6. +2° bis +4° C ist zur Aufbewahrung von Tumorzellen in den geprüften Medien am geeignetsten.

Literatur

[1] Craigie, J.: Brit. Med. J. No 4643, 1485 (1949). — [2] Craigie, J.: Adv. Cancer Res. **1**, 197 (1954). — [3] Frohberg, H., G. Benad u. H. Bekemeier: Z. Krebsforsch. **61**, 463 (1957). — [4] Kaplan, R. W.: Naturwissenschaften **42**, 184 (1955). — [5] Klein, G.: Z. Krebsforsch. **61**, 99 (1956). — [6] Luyet, B. J., and P. M. Gehenio: Biodynamica (Normandy) **3**, 33 (1940). — [7] Matthies, E., u. H. Frohberg: Naturwissenschaften **42**, 491 (1955).

P. Stern, M. Deželić und R. Košak (Serajevo): Über die analgetische und antipyretische Wirkung von k-Vitamin und Dicumarol mit besonderer Berücksichtigung des 4-Hydroxycumarins

Die analgetische Wirkung des K_3-Vitamins (KV) wurde von Kubović, Pražić u. Atancković[5] beobachtet. Wir haben uns die Frage gestellt, ob die Dicumarolpräparate (Dc) ähnliche Wirkung haben, da sie mit KV sowie auch mit der Salicyl- und Acetylsalicylsäure gewisse chemisch-strukturelle Ähnlichkeiten aufweisen. Alle diese Annahmen wurden unlängst von unseren Experimenten bestätigt[7]. Dabei wurde festgestellt, daß das Dicumarol, das Tromexan und Warfarin sowie das Cumarin analgetisch, antipyretisch und sedativ wirken. Für das Cumarin war das teilweise schon früher bekannt. Zusätzlich wurde von uns eine ganze Reihe KV- und Dc-Verbindungen auf ihre analgetische, antipyretische und sedative Wirkung hin untersucht. Die Schmerzempfindung wurde nach der Methode von Woolfe u. McDonald[9] bei Mäusen und nach der Methode von Eddy[2] an Rattenschwänzen bzw. mittels Wärmestrahl an der Haut bei Meerschweinchen im Bereich der Regio retroauricularis, wo die Schmerzempfindlichkeit groß ist, sowie in der Hüftgegend, wo die Empfindlichkeit geringer ist, untersucht. Dies hängt von dem Histamingehalt der Haut, wie wir unlängst gezeigt haben, ab[8]. Die antipyretische Wirkung wurde am Kaninchen mittels Heuinfus und die sedative Wirkung mittels der Methode von Košak[4] untersucht.

Aus der Tabelle ist ersichtlich, daß die ausgewählten Verbindungen unterschiedlich wirkten, und zwar unabhängig von ihrer Wirkung auf die Koagulation. Besonders auffallend war die starke Wirkung des 4-Oxycumarins auf alle drei von uns untersuchten Effekte. Schon 0,025 γ/kg s.c. wirken bei der Maus analgetisch, während 1 γ beim Meerschweinchen und bei der Ratte erforderlich sind. Auch per os gegeben wirken diese Substanzen gleichfalls in kleinen Mengen antipyretisch und sedativ. Die therapeutische Breite ist beträchtlich, da Mäuse Dosen von 40 mg/kg (per os oder s.c.) noch gut vertragen. Die Blutgerinnung wurde ebenfalls untersucht und zwar nach der Methode von Doetl u. Ripke[1], wobei wir fanden, daß die Wirkung des 4-Oxycumarins der Salicylsäure ungefähr gleichkommt. Eine antiphlogistische Wirkung ist erst in großen Dosen

Tabelle 1

	Substanz	n	Analgetische Wirkung		Antipyretische Wirkung		Sedative Wirkung	
			Kleinste Dosis pro kg	Effekt	Kleinste Dosis pro kg	Effekt	Kleinste Dosis pro kg	Effekt
1.	Acidum salicylicum	13	20 mg	—	30 mg	+	20 mg	—
2.	Acidum acetylo-salicylicum	15	2 mg	+	20 mg	+	40 mg	—
3.	Cumarin	15	10 mg	+	20 mg	+	20 mg	+
4.	4-Oxycumarin	20	0,025 γ	+	1 γ	+	0,25 γ	+
5.	3,3-Methylen bis (4-oxycumarin) (Dicumarol)	13	5 mg	+	5 mg	—	5 mg	+
6.	Äthyl bis (4-oxy-cumarinyl)acetat (Tromexan)	29	30 mg	—	30 mg	+	15 mg	+
7.	dl-3(α-Acetonyl-benzyl)-4-oxy-cumarin (Warfarin)	31	10 mg	+	10 mg	—	5 mg	+
8.	Sintrom (Aceno-cumarin	15	3 mg	—	6 mg	+	10 mg	+
9.	Aesculetin (6,7-Dihydrocumarin)	10	1 mg	+	2 mg	+	2 mg	—
10.	Aesculin	15	2 mg	+	4 mg	+	4 mg	—
11.	Fraxetin(7,8-Dioxy-6-methoxy-cumarin)	15	1 mg	+	2mg	—	2 mg	—
12.	Fraxin(8-Glucosido-fraxetin)	15	10 mg	+	10 mg	—	10 mg	—
13.	1,4α-Naphthochinon	15	1 mg	+	2 mg	+	1 mg	—
14.	1,2β-Naphthochinon	20	10 mg	—	2 mg	—	1 mg	—
15.	K_3 Vitamin(2-Methyl-1,4-naphthochinon)	33	4 mg	—	4 mg	—	8 mg	+
16.	Anthrachinon	15	1 mg	—	2 mg	—	1 mg	+
17.	1-Aminoanthrachinon	15	2 mg	—	2 mg	—	2 mg	+
18.	2-Phenylindandion	10	6 mg	+	6 mg	+	9 mg	+
19.	Cumachlor G 25766 2 p. Chlor-phenyl-1,3,indandion	10	6 mg	—	6 mg	—	6 mg	—

von 10 mg/kg deutlich am Granulombeutel nach Selye nachweisbar. Bei kleineren Dosen von 1 mg/kg war der antiphlogistische Effekt nicht sicher feststellbar. Zur Hervorrufung antiphlogistischer Effekte mit Salicylsäure sind etwa die gleichen Dosen notwendig.

Trotz dieser antiphlogistischen Eigenschaften wird das durch Dextran hervorgerufene Ödem der Schnauze und der Pfötchen bei der Ratte von dieser Substanz potenziert.

Die allgemeine pharmakologische Analyse ergab, daß es sich hier um eine nicht toxische Substanz handelt. Sie ist am Straubschen Herz selbst in der Konzentration von 10^{-4} ohne Effekt. Bei der Katze sind 40 mg/kg ohne Wirkung auf den Blutdruck. Am isolierten Ileum des Meerschweinchens rufen Konzentrationen von 1:10000 Kontraktionen hervor. Sie hat weiterhin keine lokalanaesthetische Wirkung. Chronische Experimente zeigten, daß bei Darreichung der Substanz über 20 Tage in Dosen von 0,1 γ/kg Gewöhnung für die Schmerzempfindlichkeit bei der Maus eintritt. Bei derselben Mäusegruppe wurde die Blutungszeit am 1. und am 20. Tage kontrolliert, dabei wurde Verlängerung der Blutungszeit konstatiert. Große Dosen des 4-Oxycumarins (1 und 10 mg/kg) rufen bei der Ratte Leukocytose mit Lymphocytose hervor, die Zahl der Erythrocyten sowie das Körpergewicht bleiben unverändert.

Es ist die Frage, ob die Salicylsäure im Körper vielleicht in Oxycumarin übergeht, bzw. ob sich der Oxycumarinring zu Salicylsäure aufspaltet. Den Literaturangaben nach gilt für das Tromexan[6], daß seine Oxycumarinringe nicht gesprengt werden, ebensowenig konnte nach der Verabreichung von Oxycumarinderivaten Salicylsäure im Urin nachgewiesen werden. Haberland u. Mitarb.[3] haben kürzlich mittels der C^{14}-markierten Salicyl- und Acetylsalicylsäure nachgewiesen, daß sich im Organismus kein Cumarinring bildet.

Demgemäß könnten wir nun von einer neuen Gruppe Antipyretica-Analgetica reden, obwohl gewisse chemische Beziehungen zwischen der Salicylsäure und dem 4-Oxycumarin bestehen. Die antipyretische und analgetische Wirkung des 4-Oxycumarin steht wie bei KV und Dc nicht in direkter Beziehung zu der Wirkung auf das Prothrombin, da die analgetisch-antipyretische Wirkung sofort eintritt, während die Wirkung auf Prothrombin viel später erfolgt. Im Gegensatz zum 4-Oxycumarin entfaltet Aspirin keine sedative Wirkung.

Literatur

[1] Doetl, K., u. O. Ripke: Medizin und Chemie III, Bayer Leverkusen (1936). — [2] Eddy, E.: J. Pharmacol. a. Exper. Ther. **45**, 339 (1932). — [3] Haberland, G., H. Medenwald and L. Köster: Hoppe-Seylers Z. **306**, 235 (1957). — [4] Košak R.: Acta Pharmaceut Jug. **4**, 83 (1954); **6**, 153 (1956) — [5] Kubović, M., M. Pražić

and D. Atanacković: Proc. Soc. Exper. Biol. a. Med. **90**, 660 (1955). — [6] Montigal, C., and R. Pulver: Arch. internat. Pharmacodynamie **94**, 395 (1953). — [7] Stern, P., R. Košak and E. Bašagić: Acta pharmaceut. Jug. **7**, 67 (1957). — [8] Stern, P., et S. Huković: Arch. internat. Pharmacodynamic **108**, 273 (1956). — [9] Wolfe, G., and A. McDonald: J. Pharmacol. a. Exper. Ther. **80**, 300 (1944).

G. Pfennigsdorf und W. Ponsold (Halle): Probleme der Milchvitaminierung

Die wirksamste Form zur Bekämpfung der Vitamin D-Mangelkrankheiten ist die allgemeine stumme Massenprophylaxe durch D-Vitaminierung aller zum Verkauf kommender Milch auf 300—500 IE/l gemäß der Forderung der Pädiater. Grab u. Auhagen empfehlen den Zusatz von alkoholischer Vitamin D-Lösung: Ein Vorkonzentrat (z. B. 125 mg Vitamin D auf einen Liter Milch) wird im Tank mit der entsprechenden Milchmenge während einer Stunde verrührt, ein Vorgang, der in vielen Molkereien den kontinuierlichen Betrieb stört. Es ist keine Gewähr gegeben, daß die Vitaminierung stets in vorgeschriebener Weise erfolgt. Beim Zusatzverfahren besteht die Gefahr des Mißbrauches oder der irrtümlichen Verwendung alkoholischer (!) Vitamin D-Lösung oder des Vorkonzentrates. Eine Aushändigung von Vitamin D-Konzentraten, wie sie zur Zusatzvitaminierung Verwendung finden, an Nichtfachleute — und als solche müssen Molkereiangestellte in diesem Zusammenhang betrachtet werden — birgt deshalb gewisse Gefahren in sich. Die seit über 20 Jahren in Frankfurt angewandte Milchvitaminierung durch Bestrahlung mit Hg-Hochdruckbrennern ist mit zahlreichen Fehlern behaftet. Bei Verwendung von Hg-Niederdruckbrennern in geeigneten Apparaturen könnten die geforderten 300—500 IE D/l eingehalten werden wenn solche Geräte mit entsprechenden Kontrollsystemen versehen wären, die beim Ausfall von Brennern die durchlaufende Milch in den Tank zurückleiten. — Schwankungen im Vitaminierungseffekt infolge unterschiedlichen Provitamin-D-Gehaltes treten erst bei Aktivierung über 700 IE/l auf. Der Provitamingehalt der Milch läßt Aktivierungen über 1500 IE/l zu.

Es wird vielfach behauptet, daß durch UV-Bestrahlung in der Milch Fotoisomere des 7-Dehydrocholesterins entstehen, die toxische, aber keine antirachitischen Eigenschaften besitzen. Bei UV-Bestrahlung von Lösungen des Ergosterins steigt die antirachitische Wirksamkeit schnell zu einem Maximum an. Die Toxicität im Maximum der Vitamin D-Bildung ist lediglich durch Vitamin D bedingt. Erst nach Überschreitung dieses D-Maximums bilden sich in zunehmendem Maße andere antirachitisch unwirksame toxische Überbestrahlungsprodukte. Für die Milchvitaminierung zur Rachitisprophylaxe wird von den Pädiatern nur etwa $^1/_7$ der

maximal durch UV-Bestrahlung zu erreichenden antirachitischen Aktivität gefordert. Bei Bestrahlung auf diesen Vitamin D-Gehalt kann noch kein Toxisterin in der Milch entstehen. Tachysterin dürfte infolge seiner Labilität rasch in toxikologisch unwirksame Produkte zerfallen.

Die oft diskutierte Frage einer Eiweißdenaturierung durch UV-Bestrahlung der Milch versuchten wir durch Verfütterung von täglich 5 ml einer 100 sec/l bestrahlten Milch an 3 Wochen alte wachsende Ratten zu klären. Innerhalb einer Versuchsperiode von 50 Tagen zeigte sich keine signifikante Differenz in der Entwicklung gegenüber den Tieren, die unbestrahlte Milch erhielten. Durch die Strahlung des Hg-Niederdruckbrenners findet zusätzlich eine erhebliche Keimverminderung der Milch statt.

Für beide Verfahren der Milchvitaminierung muß die laufende Überprüfung des Vitamin D-Gehaltes im Rattenversuch gefordert werden.

J. Pichotka (Freiburg i. Br.): Die Stoffwechselgröße von Pflanzengewebe in Abhängigkeit von der Temperatur

Es wird allgemein angenommen, daß die Stoffwechselgröße einfacher organischer Systeme in übersichtlicher Weise von der Umgebungstemperatur abhängt. Insbesondere für Pflanzen und für pflanzliche Gewebe ist im normalen Temperaturbereich ein Anstieg der Stoffwechselgröße mit einem $Q_{10} = 2$—3 beschrieben worden, d. h. eine Zunahme der Reaktionsgeschwindigkeit, wie sie für die Beeinflussung chemischer Prozesse durch die Temperatur als charakteristisch gilt.

Im Zusammenhang mit der Untersuchung anderer Umweltfaktoren haben wir den Einfluß der Temperatur auf die Stoffwechselgröße isolierter Gewebe erneut geprüft. Wir gingen dabei von der Voraussetzung aus, daß eine gültige Antwort nur zu erwarten ist, wenn das Versuchsobjekt während der Versuchszeit und durch die Versuchsbedingungen keine wesentliche Änderung seiner Reaktionsfähigkeit erfährt. Für Kartoffelgewebe ist diese Bedingung weitestgehend erfüllbar. Kartoffelschnitte lassen sich in destilliertem Wasser bei hinreichender O_2-Zufuhr für Wochen und Monate halten, ohne daß eine Einschränkung ihrer Lebensfähigkeit sichtbar wird. Die folgenden Experimente wurden an Kartoffelschnitten im Warburg-Apparat durchgeführt bei fortlaufender Ablesung in einstündigem Abstand zumeist über 6 Tage.

Wenn man Schnitte von Kartoffelgewebe verschiedenen höheren Temperaturen aussetzt, so beginnt der Stoffwechsel unmittelbar anzusteigen. Der Anstieg ist um so steiler, je höher die Temperatur ist. Er führt mit einer kontinuierlichen Bewegung bis zu einem Maximum, das nach 18—30 Std erreicht wird. Dieser Maximalwert ist um so höher und

wird um so schneller erreicht, je höher die Temperatur ist. Mit dem Überschreiten des Maximums fällt bei allen Temperaturen die Stoffwechselgröße scharf auf einen Wert ab, der im weiteren Verlauf mit geringen Schwankungen konstant bleibt. In dieser konstanten Phase, die in allen Fällen am zweiten Tag erreicht wurde, ist die Stoffwechselgröße im Bereich zwischen 10° und 30° C nicht wesentlich verschieden. Im allgemeinen ist der höheren Temperatur der höhere Stoffwechsel zugeordnet, aber die Differenzen für 10°C Umgebungstemperatur betragen nicht mehr als 10% und fehlen manchmal ganz. Von einer Q_{10}-Abhängigkeit kann nicht die Rede sein. Die maximal erreichten Stoffwechselgrößen lagen beim 2—3fachen des Wertes, der in der konstanten Phase beobachtet wurde.

Die für die verschiedenen Temperaturen charakteristischen Verläufe der Stoffwechselgröße reproduzieren sich in wiederholten Experimenten mit großer Genauigkeit. Die Ergebnisse lassen sich vernünftig darstellen, wenn man sie als Einstellverläufe eines geregelten Systems mit großer Einstellzeit ansieht. Durch diese Einstellbewegungen wird in einem weiten Temperaturbereich eine annähernd gleiche Stoffwechselgröße erreicht. Das geschieht offenbar durch Änderung der Stoffwechsel-„Intensität" des Systems. Wenn man zwei Gruppen von Gewebsschnitten, die z. B. bei 15° und 25° C im eingestellten Zustand die gleiche Stoffwechselgröße erreicht hatten, bei verschiedenen Temperaturen vergleicht, so weisen die auf 15°C eingestellten Schnitte in allen Fällen die höheren Stoffwechselgrößen auf. Hier tritt also bei dem isolierten Gewebe ein Phänomen auf, das wir beim Gesamtorganismus als Adaptation bezeichnen. Die gleichen Schnitte können nacheinander an verschiedene Temperaturen adaptiert werden. Durch den Vorgang der Adaptation werden also nicht die Grundeigenschaften des Systems verändert.

W. Höfler (Freiburg/Br.): Einstellbewegungen der Sauerstoffaufnahme unter verschiedenen Sauerstoffspannungen (Untersuchungen an Pflanzengewebe)

Die Frage nach der Beziehung zwischen Sauerstoffdruck und Sauerstoffaufnahme gilt, vor allem seit den Arbeiten A. Kroghs und seiner Schule, als beantwortet, und zwar in dem Sinne, daß eine Abhängigkeit der Atmung von der Sauerstoffspannung nur unter solchen Bedingungen festzustellen ist, bei denen der Sauerstofftransport zum Reaktionsort ungenügend, d. h., wenn die Diffusion des Sauerstoffs zur limitierenden Größe wird. Das tatsächlich hierzu vorliegende experimentelle Material ist spärlich.

Wir selbst sind durch unsere Untersuchungen über die Beziehung zwischen Wassergehalt und Stoffwechselgröße an dieses Problem geführt

worden. Unser Versuchsobjekt Kartoffelgewebe bietet den Vorteil eines sehr homogenen Materials von langer Überlebenszeit. Die Atmungsmessung erfolgte nach der direkten Methode Warburgs. Das Frischgewicht der Schnitte betrug 280 mg, die Schnittdicke 1,0—1,2 oder 0,4 bis 0,6 mm. Im Reaktionsgefäß waren die Schnitte in destilliertem Wasser suspensiert, dem Tetracyclin in einer Konzentration von $1:10^6$ zugesetzt war.

Trägt man in Form einer graphischen Darstellung auf der Ordinate die Mittel der Atmungsgrößen bei den verschiedenen Sauerstoffspannungen in mm^3/Std und auf der Abszisse die Zeit auf, so findet sich, daß für jede der verwendeten Sauerstoffspannungen der zeitliche Verlauf der Sauerstoffaufnahme von der 48. Std an mit geringen Schwankungen konstant ist. Die höchste Atmungsgröße wird bei 60% O_2 erreicht mit 38,4 mm^3/Std, dann folgt 40% mit 37,4, 100% mit 34,2, 20% mit 27,2. Zwischen 10 und 4% O_2 mit 16,4, bzw. 16,5 mm^3/Std besteht kein Unterschied. Der Unterschied zwischen 40 und 60% verschwindet im Gesamtmittel, ist aber in jedem Einzelversuch sicher. Die Unterschiede zwischen allen anderen Konzentrationen sind im Einzelversuch und im Gesamtmittel sicher bei einer Zufallswahrscheinlichkeit von weniger als 0,001.

Trägt man die Sauerstoffaufnahme der letzten 24 Std gegen die Sauerstoffspannung auf, so ergibt sich, daß im Bereich zwischen 10 und 60% O_2 die Sauerstoffaufnahme mit der Sauerstoffspannung steigt. Oberhalb 60% und unterhalb 10% gilt diese Beziehung nicht mehr.

Da die Sauerstoffaufnahme oberhalb 40% nur noch unerheblich ansteigt, liegt es nahe, anzunehmen, bei der verwendeten Schnittdicke wäre bei etwa 40% O_2 die volle Atmungskapazität des Schnittes erreicht, oberhalb 40% daher praktisch keine weitere Steigerung mehr zu erzielen, während unterhalb 40% die Atmung infolge ungenügender Sauerstoffzufuhr absinken muß. Der Diffusionskoeffizient erhielte dann den durchaus plausiblen Wert von $1{,}0 \cdot 10^{-5}$ cm^2/min.

Die Atmungsgrößen unterhalb 40% müßten aber dann proportional der Sauerstoffspannung fallen längs einer Geraden, die von der Atmungsgröße bei der Grenzspannung 40% aus durch den Koordinatenschnittpunkt geht. Alle tatsächlich beobachteten Werte liegen aber über dieser Geraden. Die Sauerstoffaufnahme bei 20% O_2 liegt um 45%, bei 10% O_2 um 75% höher, als zu erwarten wäre. Es folgt daraus, daß die dargestellte Beziehung zwischen Sauerstoffaufnahme und Sauerstoffspannung nicht diffusionsbedingt ist.

Handelt es sich dann um eine direkte *Wirkung* der Sauerstoffspannung im Sinne einer Beschleunigung der Reaktionsgeschwindigkeit?

Zur Beantwortung dieser Frage müssen wir den gesamten zeitlichen Verlauf der Sauerstoffaufnahme in die Betrachtung einbeziehen. Die Sauerstoffaufnahme steigt innerhalb der ersten 24 Std kontinuierlich auf

ein Maximum, sinkt dann wieder ab und mündet nach 48 Std in die eben besprochene konstante Phase. Die schließlich erreichte konstante Sauerstoffaufnahme ist also das Ergebnis eines langfristigen Adaptationsvorganges, der im Gewebe unter dem Einfluß der Sauerstoffspannung — und nach unseren weiteren Erfahrungen — der Temperatur und des osmotischen Druckes, bzw. des Salzgehaltes des Mediums abläuft. In dem Bereich zwischen 10 und 60% O_2, in dem die Sauerstoffaufnahme der konstanten Phase mit der Sauerstoffspannung steigt, ist die Überlebensfähigkeit der Schnitte praktisch unbegrenzt. Oberhalb 60% und unterhalb 10% ist die Überlebensfähigkeit dagegen herabgesetzt. Eine vollständige Adaptation wird in diesen Fällen nicht mehr erreicht..

Diskussion. G. Grupp (Freiburg i. Br.): Sind die Verhältnisse bei Warmblütergewebe genau so wie bei Kartoffelschnitten?

Schlußwort W. Höfler: An Warmblütergewebe haben wir noch keine eigenen Erfahrungen. Die Schwierigkeit beim Arbeiten mit Warmblütergewebe liegt darin, daß man nicht sicher ist, ob man in einem stabilen Zustand arbeitet.

Th. Luthardt (Freiburg/Br.): Stoffwechsel und Atemgrößen in ihrer Beziehung zur Körpertemperatur (Basaltemperatur) im Menstruationscyclus

Mit diesen Untersuchungen möchten wir einen Beitrag geben zu der Fragestellung, ob die Änderungen von Körpertemperatur und Atemgrößen im Verlauf des Genitalcyclus mit Stoffwechselumstellungen einhergehen. Die Frage erscheint uns im Rahmen der Diskussion um die Temperaturregulation von Interesse. Bei Sauerstoffmangel- und Wärmebelastungsexperimenten haben wir die Erfahrung gemacht, daß gesetzmäßige Stoffwechselumstellungen immer mit Änderungen der Körpertemperatur einhergehen und umgekehrt. Diese Zusammenhänge scheinen beim Meerschweinchen relativ einfacher, beim Menschen dagegen recht komplizierter Natur zu sein. Weil die Basaltemperaturänderungen im Laufe des Cyclus bei der Frau die besterfaßbare regelmäßige physiologische Temperaturumstellung beim Menschen ist, interessierte sie uns in diesem Zusammenhang.

Die Literaturbefunde über eventuelle Änderungen des Stoffwechsels in Abhängigkeit vom Cyclus differieren stark und sind größtenteils methodisch unbefriedigend. Die Änderung von einigen Atemgrößen und ihre zeitliche Beziehung zur Basaltemperatur ist in neuerer Zeit ausführlich von Loeschcke, G. Doering u. Mitarb. untersucht worden. Eine brauchbare Arbeit, in der gleichzeitig Stoffwechsel- und Atemgrößen in ihrer Beziehung zur Basaltemperatur untersucht sind, konnten wir nicht finden.

Den eigenen Ergebnissen liegen für jede Kurve 153 unausgesuchte Messungen zugrunde, die an 2 Versuchspersonen gewonnen wurden und im ganzen etwa 5 Menstruationscyclen mit täglichen Messungen erfassen. Wir arbeiteten mit dem Stoffwechselapparat von Hartmann & Braun, der durch die Möglichkeit der fortlaufenden Registrierung eine sichere Kontrolle darüber gestattet, ob die Versuchsperson während der Messung stoffwechselmäßig im Gleichgewicht ist. Die erhaltenen Kurven von Atemminutenvolumen (AMV), prozentualer O_2-Ausschöpfung der Inspirationsluft, CO_2-Gehalt der Exspirationsluft sowie der Basaltemperatur entsprechen in ihrem allgemeinen Verlauf den bekannten Befunden: zur Zeit der hohen Basaltemperatur ist auch das AMV hoch, die O_2-Ausschöpfung der Inspirationsluft und der CO_2-Gehalt der Exspirationsluft sind tief. Einen entsprechenden Befund haben Loeschcke, Doering u. Mitarb. in ihren Untersuchungen über die alv. CO_2-Spannung als Ventilationssteigerung infolge erhöhter Erregbarkeit des Atemzentrums auf CO_2 bei gesenkter Schwelle beschrieben. Wir hatten bei unseren Befunden den Eindruck, daß die Änderung des CO_2-Gehalts der Exspirationsluft im Intermenstruum in ihrem Beginn und in ihrem steilsten Teil zeitlich den entsprechenden Änderungen der O_2-Ausschöpfung und auch des AMV etwas vorausläuft. Wenn diese Vermutung richtig ist, dann muß das im RQ zum Ausdruck kommen. Tatsächlich findet man zu genau entsprechender Zeit eine über Tage währende Senkung des RQ, wie sie sonst im gesamten Cyclus nicht zu finden ist, selbst ein vereinzelt tief liegender Wert erreicht kaum diese Größe. Diese RQ-Senke ist von den einzelnen Werten her statistisch hoch gesichert. Der Wiederanstieg des RQ zu den sonst üblichen Werten fällt zeitlich mit dem Temperatursprung zusammen. Der O_2-Verbrauch ist während der Zeit der RQ-Senkung im Ansteigen. In unseren Befunden gehören somit die Stoffwechselumstellungen, wie sie sich in RQt und O_2-Aufnahme niederschlagen, zeitlich zu den ersten Veränderungen im Intermenstruum. — Die rückläufigen Bewegungen der gemessenen Größen um Menstruationsbeginn fallen zeitlich viel enger zusammen. RQ-Änderungen sind dabei nicht zu sehen, die O_2-Aufnahme sinkt ziemlich scharf um etwa 3% auf ein neues Niveau ab. Der Verlauf dieses Kurventeils gegenüber dem bei hoher Basaltemperatur ist, berechnet nach dem χ-Test nach van der Waerden, mit einer Unsicherheit von weniger als 1% behaftet.

Die Verschiedenartigkeit der beschriebenen Umstellungen an den beiden Punkten, vor allem in ihrer zeitlichen Beziehung zueinander, ist von der Literatur her bekannt. Besonderes Interesse wird den Umstellungen zur Zeit des Temperaturursprunges im Intermenstruum und ihren Beziehungen zum Zeitpunkt der Ovulation zugewandt. Loeschcke, Doering u. Mitarb. schlossen aus ihren vorhin erwähnten Untersuchungen auf eine direkte Wirkung des Corp.-lut.-Hormons auf die

zentralnervösen Strukturen der Atmungs- und Temperaturregulation, wobei sie das Fehlen von Stoffwechselumstellungen voraussetzen. Die drei von ihnen zitierten Stoffwechselarbeiten können allerdings nicht als repräsentativ angesehen werden und unterscheiden sich in ihrer Aussage erheblich. Als weiteres Argument werden von G. Doering eigene Befunde von Messungen des p_H und der Alkalireserve des Blutes angeführt; er findet während der Zeit der erhöhten Atemerregbarkeit, also in der Corp.-lut.-Phase, oft einen leicht gesteigerten p_H-Wert bei leicht gesenkter Alkalireserve und folgert daraus, daß keine acidotische Stoffwechsellage bestehen könne; in einer solchen sieht er offenbar die einzig mögliche Ursache einer Atemerregbarkeitssteigerung vom Stoffwechsel her. Tatsächlich gehen aber z. B. auch die Temperaturverstellungen und Atemerregbarkeitsänderungen im Sauerstoffmangel, die gesetzmäßig mit Stoffwechselumstellungen verknüpft sind, nicht mit acidotischen, sondern mit alkalotischen p_H-Verschiebungen einher, so daß das Nichtvorliegen einer acidotischen Stoffwechselsituation als Argument in diesem Zusammenhang nicht überzeugen kann.

Unsere Befunde zeigten, daß die Änderungen der Basaltemperatur und der Atemgrößen im Laufe des Menstruationscyclus mit Stoffwechselumstellungen einhergehen, und wir dürfen auf Grund von Erfahrungen aus anderen Temperaturregulationsuntersuchungen annehmen, daß diese Stoffwechselumstellungen bei der Wirkung des Corp.-lut.-Hormons auf Atmung und Körpertemperatur eine Rolle spielen.

Diskussion. G. Grupp (Freiburg i. Br.): Die O_2-Verbrauchskurve ist in ihrem gesamten Verlauf nicht sehr unterschieden. Wie sicher sind die Unterschiede der Kontroll- gegen die Menstruations-Periode?

Schlußwort Th. Luthardt: zu Rummel: Zwischen den Stoffwechsel und Atemgrößenänderungen besteht keine echte Latenz, die Stoffwechseländerungen dauern bis zum Ende der Umstellungen an.

Zu Grupp: Die Kurve der O_2-Aufnahme ist in ihrem Verlauf statistisch gesichert (χ-Test nach van der Waerden). Sie ist von allen dargestellten Kurven die mit dem größten Fehler behaftete.

D. Demonstrationen

Dal Ri (Göttingen): Methode zur fortlaufenden Registrierung der Körpertemperatur bei Laboratoriumstieren mit mechanischem Ordinatenschreiber

Bei der fortlaufenden Aufzeichnung von Kreislauf- und Atmungsgrößen unter langanhaltenden pharmakologischen Einwirkungen ist die Verwendung mechanischer Registriergeräte unentbehrlich. Bei solchen Untersuchungen ist oft auch eine gleichzeitige mechanische Aufzeichnung des Verhaltens der Körpertemperatur erwünscht, um ihre Beziehung zu den genannten Größen zu beurteilen.

Zwei Punkte wurden bei der Entwicklung des Gerätes zur Bedingung gemacht:

1. Als graphisches System sollte ein mechanischer Ordinatenschreiber verwendet werden.

2. Die Temperatur sollte gleichzeitig durch ein Zeigerinstrument unter dauernder Sichtkontrolle gehalten werden.

Mittels eines von der Temperatur abhängigen Widerstandes (Thermistor) wurde die Temperaturmessung in eine Spannungsmessung umgewandelt. Die erhaltene Meßspannung dient einmal dazu, das Zeigerinstrument zu steuern, zum anderen dazu, einen Thyratron-Kippkreis in seiner Schaltfrequenz zu beeinflussen. Über ein Relais ist der Kippkreis mit dem Ordinatenschreiber verbunden, dessen Schreibhöhe von der Schaltfrequenz und damit von der gemessenen Temperatur abhängig ist. Nullpunkt und Empfindlichkeit sind kontinuierlich einstellbar. Eine Eichvorrichtung ist vorhanden.

G. Röder, H. Rodegra und K. Soehring (Hamburg): Registrierung von Mechanogrammen mit Hilfe einer einfachen Photozellenanordnung

Kontraktionen glatter Muskulatur auf beliebige äußere Reize wurden in bisher bekannten Anordnungen (z. B. Rußkymographion) fast ausschließlich mit Registriermitteln aufgezeichnet, die den Bewegungsvorgang mechanisch abtasten. Die Nachteile dieser Methode sind Trägheit, Reibung, geringes Auflösungsvermögen und Energieverlust.

Das nachstehend beschriebene Verfahren gestattet, den Kontraktionsprozeß unbehindert ablaufen zu lassen und ihn zugleich exakt bei hoher Empfindlichkeit zu beobachten.

Dies wird durch Verwendung einer lichtelektrischen Abtastung mit einer Photozelle erreicht. Die Eigenschaft der Photozelle, auf Änderung

der absorbierten Strahlungsleistung linear anzusprechen, wird in Verbindung mit einem stabilisierten elektronischen Verstärker ausgenutzt, um den Bewegungsvorgang linear auf ein elektrisches Meßinstrument zu übertragen.

Die Methode kann für alle Vorgänge verwendet werden, bei denen der Ablauf eines Bewegungsvorganges im Strahlenfeld einer Photozelle eine Rolle spielt.

Die Anordnung ist in mehrere Teile gegliedert:

Der *Muskelstreifen* befindet sich einseitig fixiert in einem Badgefäß. Die Belastung kann je nach dem verwendeten Muskel von Grammbeträgen bis zu 0,1 g und darunter variiert werden. Sie wird in einem vom Hauptgerät getrennten *Abtastkopf* mit einer Art Waagebalken vorgenommen, der wegen seines extrem kleinen Gewichts weitgehend reibungslos und im in Betracht kommenden Frequenzbereich absolut trägheitslos gelagert ist; er folgt daher den Längenänderungen des Präparates im Strahlenfeld einer *Photozelle*. Diese liefert ein elektrisches Signal, das bis zu Längenänderungen von fast 0,001 mm linear der Kontraktion entspricht. Das Signal wird im Hauptgerät mit einem *stabilisierten elektronischen Verstärker* linear auf ein *elektrisches Meßinstrument*, bzw. außerdem auf einen parallel geschalteten *elektrischen Schreiber* übertragen.

Eigenschaften der Vorrichtung: *7 umschaltbare Empfindlichkeitsstufen*: Vollausschlag des Meßinstruments bei Bewegungen um das Nullniveau um plus oder minus 5; 4; 3; 2; 1; 0,5; 0,25 mm.

Empfindlichkeit: Ablesungsgenauigkeit mindestens $\pm$ 0,0025 mm Längendifferenz.

Stabilisierter Verstärker: Die Ablesegenauigkeit wird garantiert durch invariante Anzeige bei Schwankungen der Netzspannung (220 V) um +15 und —20% (VDE-Bedingungen).

Anschlußmöglichkeit eines elektrischen Schreibers zusätzlich zum eingebauten Meßinstrument.

Das Gerät wird am Beispiel der Kontraktion isolierter Nabelschnurarterien-Streifen (Länge 20 mm; Belastung 0,2 g) auf 5-Oxytryptamin demonstriert. Dabei konnten Ausschläge bis zu 3000 μ einerseits, 10—20 μ andererseits einwandfrei registriert werden.

P. Reichertz (Bonn) und H. F. Zipf (Berlin-West): Optische und akustische Darstellung einer zweimal hintereinander herbeigeführten totalen Endoanaesthesie der Lungenreceptoren

Die vom afferenten Halsvagus eines Meerschweinchen in Urethannarkose abgeleiteten beatmungssynchronen Aktionsimpulse („Impulsspindeln") konnten nach Verstärkung über einen RC-verstärker auf Tonband aufgenommen und nachträglich sowohl akustisch als auch

optisch auf den Leuchtschirm eines Kathodenstrahloszillographen reproduziert werden. Der demonstrierte Versuchsablauf enthielt die im Verlaufe von 2 i.v. Dauerinfusionen mit *Dodecyl-nona-äthylenoxydäther* (Do 9/3) 2mal hintereinander herbeigeführte totale Ausschaltung der Lungendehnungsreceptoren (Endoanaesthesie) und ihre anschließende Restitution zur Ausgangslage. Die i.v. Gesamtmenge betrug im ersten Endoanaesthesieabschnitt 13 mg/kg, im zweiten 9 mg/kg.

K. Feller (Dresden): Mechanisch-elektrischer Ordinatenschreiber

Zwei Gewindestangen, von denen die eine als Hub-, die andere als Sperrstange fungiert, transportieren einen Schlitten mit der Schreibvorrichtung, wobei der Schlitten wahlweise um 1, 2 oder 3 mm/Impuls weiter bewegt wird. Eine Frequenz von 10 Hz kann noch aufgezeichnet werden. Das Gerät schreibt nur beim Rücklauf des Schlittens. Die einwandfreie Aufzeichnung auch gegen die Trommeldrehung ist damit gewährleistet, und es besteht außerdem die Möglichkeit, am Rußkymographion Vorgänge gleichzeitig und ineinanderschreibend zu registrieren. Der Rücklauf des Schlittens wird durch eine Synchron-Kontakt-Uhr oder über eine Zeitschaltuhr ausgelöst. Während des Schreibvorganges anfallende Impulse werden gespeichert. Der Ordinatenschreiber ist auch am waagerecht liegenden Kymographion zu verwenden.

Arch. exper. Path. u. Pharmakol., Bd. 232, S. 369—486 (1958)

Aus den Forschungslaboratorien der E. Merck-Aktiengesellschaft, Darmstadt,
Pharmakologische Abteilung

Zur Pharmakologie der Kreislaufwirkung von 5-Hydroxytryptamin*

Von
R. Hotovy und E. Roesch

Mit 6 Textabbildungen

(Eingegangen am 23. Mai 1957)

Über die unterschiedliche Reaktion des arteriellen Blutdruckes auf i.v. 5-Hydroxytryptamin-Injektionen bei Hunden im Wachzustand und in Thiogenalnarkose haben wir berichtet (Hotovy u. Roesch). Der blutdrucksteigernde 5-Hydroxytryptamineffekt wurde durch die Thiogenalnarkose in einen blutdrucksenkenden umgekehrt und die blutdrucksteigernde Wirkung der Carotissinusentlastung abgeschwächt. Im Gegensatz hierzu verstärkte die Thiogenalnarkose die Wirkung von i.v. injiziertem Adrenalin, Nor-Adrenalin, Acetylcholin und Histamin am Blutdruck. In dem Bestreben, ursächliche Faktoren dieser Wirkungsumkehr des 5-Hydroxytryptamins zu erkennen, versuchten wir, bei wachen und narkotisierten Hunden sowie bei narkotisierten Katzen den 5-Hydroxytryptamin-Effekt pharmakologisch zu beeinflussen.

Methodik

Die Versuche wurden an 30 Bastardhunden mit 1 oder 2 Carotisschlingen ausgeführt. Den arteriellen Blutdruck registrierten wir bei den Hunden fortlaufend unblutig von der Carotisschlinge (nach Schroeder 1949) im Wachzustand, während der Narkose und des Nachschlafes sowie nach dem Erwachen mittels Photokymographion oder Direktschreiber (Cardioscript S/8 der Fa. Schwarzer). Die thorakalen Atmungsbewegungen wurden mit einer um den Brustkorb des Tieres gelegten schwach aufgeblasenen Gummi-Stoff-Manschette abgenommen. In einigen Versuchen wurde zusätzlich an der einen Vorderpfote der Capillardruck nach Schroeder (1950), an der anderen mit einer Modifikation dieser Methode (Roesch 1955) das Volumen, in weiteren Versuchen der Capillardruck in der Haut (Kniefalte) und in der Muskulatur (Muskelmasse des Oberschenkels) als Indicator der Durchblutung mit der neuen Versuchsanordnung von Schroeder (1956) registriert. Die Werte für Schlag- und Minutenvolumen sowie für peripheren und elastischen Widerstand errechneten wir mit der Methode der physikalischen Kreislaufanalyse nach Wezler u. Böger aus Carotisdruck- und Femoralisvolumenpulsregistrierungen.

In einer zweiten Versuchsserie wurden Hunde mit Pernocton (40 mg/kg i.v.) narkotisiert und der Blutdruck in der A. femoralis blutig über ein Quecksilbermanometer registriert. Gleichzeitig schrieb ein Ordinatenschreiber mit Hilfe des

* Herrn Professor Dr. Karl Junkmann zum 60. Geburtstag gewidmet.

Pulsfrequenzabnehmers nach Forst die Dauer jedes einzelnen Pulses auf. Der Druck im rechten Vorhof oder Ventrikel wurde durch einen Herzkatheter mit einer Druckkapsel nach Schroeder über ein Wassermanometer und die Thoraxexkursionen mittels eines durch einen Faden am Thorax befestigten Hebels registriert. Die i.v. Injektionen der Pharmaka erfolgten in die Vena femoralis.

Zur Durchblutungsmessung an einzelnen Gefäßen von Hunden in Chloralose- bzw. Chloralose-Urethan-Narkose verwendeten wir die Reinsche Thermostromuhr mit Elementen alten Typs bei Venen und Kompensations-Elementen nach Wever u. Aschoff bei Arterien. In diesen Versuchen wurde der Blutdruck in der A. brachialis teils mit einem Wismuttauchspulmanometer (Hampel), teils mit einem Meßkopf nach Schroeder und die Pulsfrequenz mit einem neuen elektrischen Pulsfrequenzzählapparat der Fa. Neusel, Darmstadt, registriert.

In Ergänzung zu den Versuchen an Hunden führten wir Versuche an narkotisierten (40 mg Chloralose und 250 mg Urethan pro Kilogramm i.v.) und an in Äthernarkose nach Dale bzw. Sherrington dekapitierten Katzen aus. Registriert wurden am Rußkymographion der Blutdruck (Art. carotis) mittels Quecksilbermanometer, die Darmmotorik mit Hilfe einer durch Oesophagus und Magen in den Dünndarm eingeführten Ballonsonde über ein Wassermanometer, das Milzvolumen nach Riechert u. Schmieder und — bei den narkotisierten Tieren — die Spontanatmung mittels eines durch einen Faden mit der Thoraxwand verbundenen Hebels.

In unseren Versuchen verwendeten wir 5-Hydroxytryptamin-Creatininsulfat (im folgenden 5-HT genannt) wenn nicht anders bezeichnet in einer Dosierung von 50 γ/kg i.v., l-Adrenalin, Nor-Adrenalin, Histamindihydrochlorid, Belladonninbisulfat, Bulbocapninhydrochlorid Merck, Yohimbinhydrochlorid Merck, Veratridin, Cevadin, Dihydroergocristin, Dihydroergotamin, Chloralose Merck, 5,5-Methyl-thioäthyl-(2′-Pentyl)-2-thiobarbitursaures Natrium (Thiogenal), Hexobarbital-Natrium, β-Bromallyl-sek.-butyl-barbitursaures Natrium (Pernocton), Atropinsulfat, Azamethoniumbromid, 1-(p-Bromphenyl)-1-(2-pyridyl)-3-N,N-dimethylpropylaminmaleat (Ilvin), Chlorpromazin, Harminisäthionat, 1,4-Dihydrazinophthalazinsulfat, Natriumazid, Benzoyl-d-pseudotropincarbonsäure-propylesterhydrochlorid (Psicain-Neu), Methamphetamin-hydrochlorid, 4-Aminopyridin. Mit jedem der aufgeführten Präparate wurden im Durchschnitt 7 Versuche durchgeführt.

I. Die Wirkung von 5-HT bei wachen und narkotisierten Hunden und Katzen

Wache Hunde reagierten auf regelmäßig in 10 bis 20 minutigen Abständen i.v. gegebene Injektionen von 50 γ 5-HT pro Kilogramm in folgender Weise: mehr oder weniger ausgeprägter Blutdruckabfall mit Bradykardie für die Dauer weniger Pulse, danach sofort steiler Blutdruckanstieg (im Mittel um 40% über den Ausgangswert) und Tachykardie, beides mit einem Maximum nach 10—20 sec, gleichzeitig starke Vertiefung und Beschleunigung der Atmungsbewegungen. Nach einem ebenso steilen teilweisen Rückgang des Blutdruckes folgte eine zweite allmählichere und geringere Blutdruckerhebung, deren Maximum etwa 1 min nach Beginn des ersten Blutdruckanstieges lag; dieser zweite Gipfel war häufig mit einer mäßigen Bradykardie verbunden. Bis zur völligen Rückkehr von Blutdruck und Pulsfrequenz bis auf den Ausgangswert vergingen im allgemeinen 10 min. Die Zweigipfeligkeit der

pressorischen Blutdruckreaktion ist charakteristisch für die 5-HT-Wirkung beim wachen Hund. Sowohl der erste als auch der zweite Gipfel der Blutdruckkurve gingen mit einer Erhöhung des peripheren und des elastischen Gesamtwiderstandes und einer Abnahme des Schlag- und Minutenvolumens einher, der Capillardruck in der Vorderpfote, in der Haut und im Muskel sowie das Pfotenvolumen nahmen ab. Diese Wirkungen waren bei 15- bis 20minutlichen 5-HT-Injektionen beliebig oft in gleicher Stärke reproduzierbar, bei 10minutlichen Injektionen wurde gelegentlich Wirkungsabschwächung (Tachyphylaxie?) beobachtet.

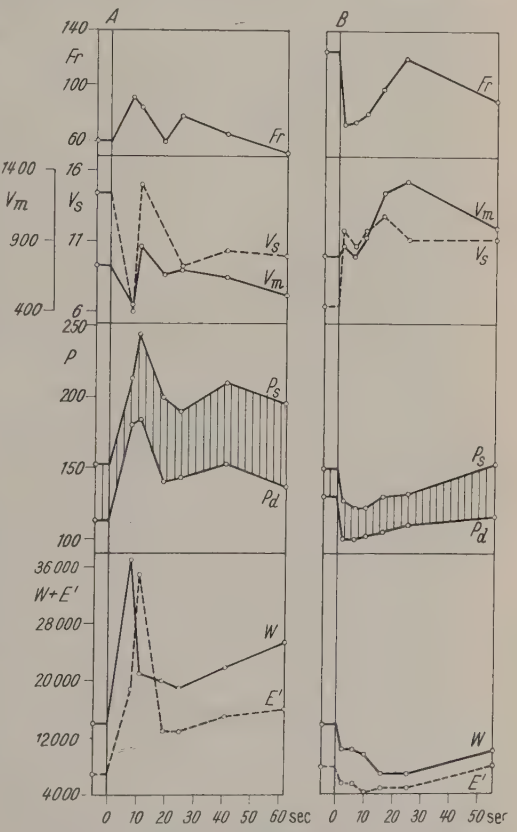


Abb. 1. Wirkung von 50 γ/kg 5-HT i.v. auf die nach WEZLER u. BÖGER ermittelten Kreislaufgrößen beim Hund Assor (30 kg), bei *A* im Wachzustand, bei *B* 5 min nach Einleitung einer Narkose mit 35 mg/kg Thiogenal. *Fr* Pulsfrequenz pro Minute, V_s Schlagvolumen und V_m Minutenvolumen in Kubikzentimetern, P_s systolischer, P_d diastolischer arterieller Blutdruck in mm Hg, *W* peripherer Widerstand in dyn. sec/cm^5, *E'* elastischer Widerstand in dyn/cm^5

Die gleiche 5-HT-Dosis innerhalb der ersten Viertelstunde nach Einleitung der Narkose (Thiogenal 30 bis 40 mg — teilweise mit Fortsetzung durch i.v. Dauerinfusion von 0,8 mg Thiogenal/kg/min —, Thiopental-Natrium 25 mg oder Hexobarbital-Natrium 40 mg/kg, in 2 min i.v. injiziert) führte bei fast allen Hunden zu einer umgekehrten Wirkung, d. h. sofortigem Blutdruckabfall (um etwa 20% unter den Ausgangswert) mit Bradykardie, Abnahme des peripheren und des elastischen Gesamtwiderstandes, Vergrößerung von Schlag- und Minutenvolumen. Haut- und Muskelcapillardruck und Volumen der Vorderpfoten, die durch die Narkose stark erhöht worden waren, nahmen stärker ab als vorher. Die Rückkehr aller Werte zur Ausgangslage erfolgte innerhalb von 2—5 min. Die Atmungsstimulierung war abgeschwächt und teilweise völlig unterdrückt (Abb. 1—2). Es ist uns gelungen, mit 50 γ 5-HT

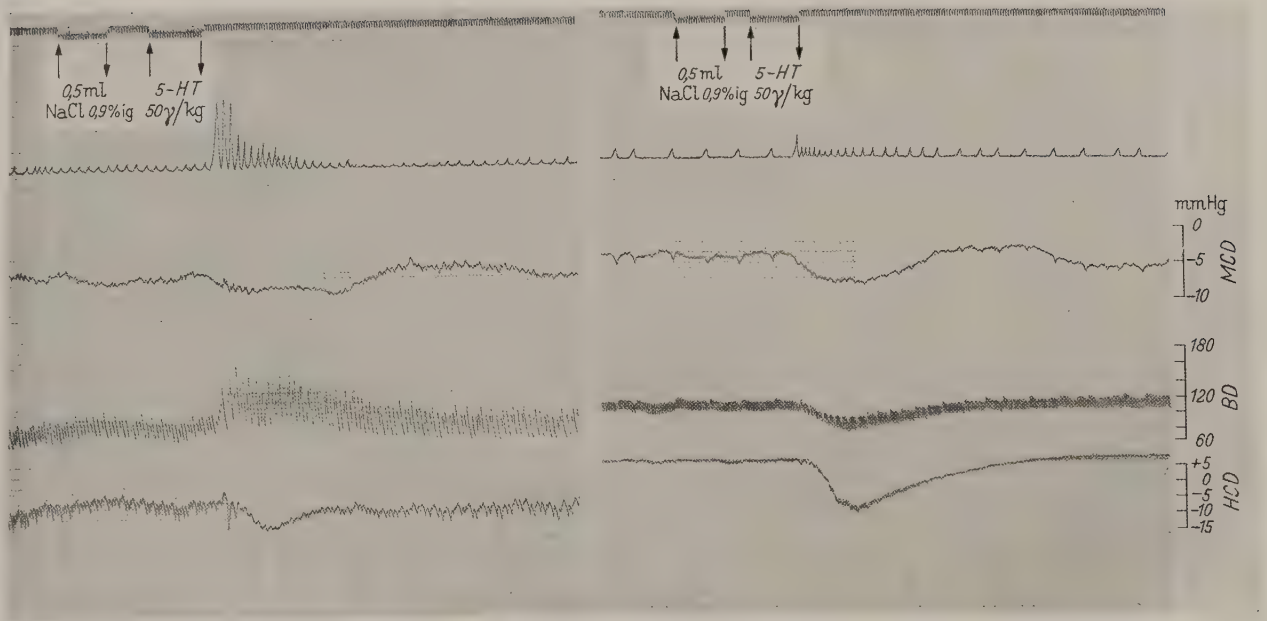


Abb. 2. Wirkung von 50 γ/kg 5-HT i.v. auf Muskel- und Hautdurchblutung (nach SCHROEDER) beim Hund Strupp (17 kg) im Wachzustand (links) und in Narkose (rechts, 20 min nach 40 mg/kg Thiogenal i.v. während anschließender i.v. Dauerinfusion von 0,8 mg/kg/min Thiogenal). Registrierung — von oben nach unten — der Zeit in Sekunden, der thorakalen Atmungsbewegungen, des Muskelcapillardrucks (*MCD*), des Blutdrucks an der Carotisschlinge (*BD*) und des Hautcapillardrucks (*HCD*). *O* Entlastungsdruck von 35 mm Hg

pro kg i.v. eine abklingende Hexobarbital-Natrium-Narkose vorübergehend nochmals zu vertiefen.

Bei mit Pernocton narkotisierten Hunden führte die i.v. Injektion von 5-HT in den Dosen von 50, 75 und 100 γ/kg entweder zu einer

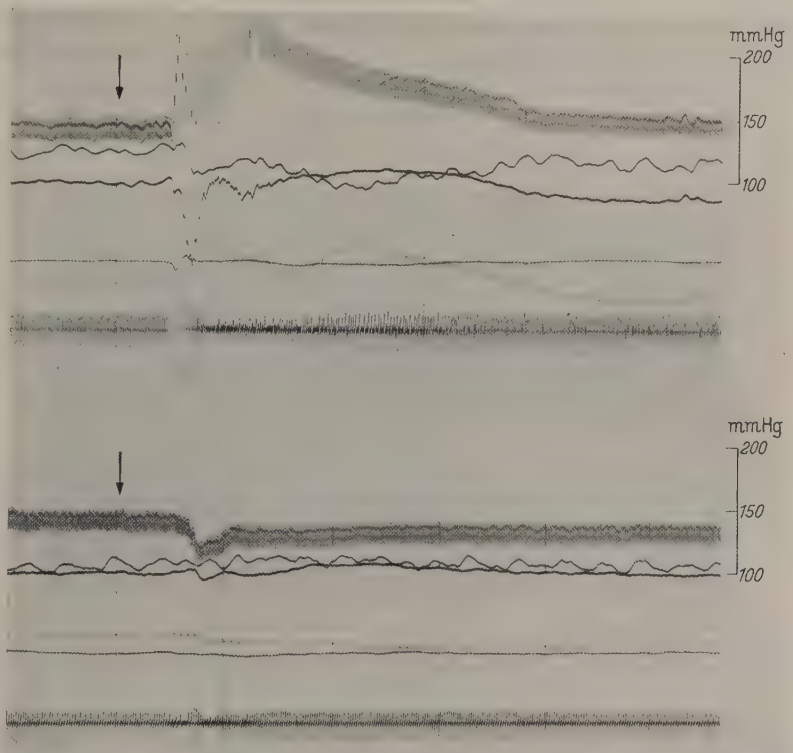


Abb. 3. Wirkung von 40 γ/kg 5-HT i.v. bei einem 20 kg schweren Hund in Chloralose-Narkose (oben) und in Chloralose-Thiogenal-Narkose (unten, 10 min nach 15 mg/kg Thiogenal i.v. während anschließender i.v. Dauerinfusion mit 0,8 mg/kg/min Thiogenal). Registrierung — von oben nach unten — des Blutdrucks in der A. brachialis, der Durchblutung (Reinsche Stromuhr) in V. portae, A. vertebralis, V. renalis, V. femoralis und der Atmung mit Pneumotachographen. Zeitschreibung: Minuten

Blutdrucksenkung, wie wir sie bei mit Thiogenal narkotisierten Tieren beschrieben haben, oder zu einer mäßig starken, jähen und kurzdauernden initialen Senkung (10—20 mm Hg), die von einer Blutdrucksteigerung um 30—40 mm Hg gefolgt war. Die Atmung wurde durch 5-HT kurzdauernd vertieft, anschließend stellte sich entweder eine Bradypnoe mit flachen Atemzügen oder ein kurzdauernder Atmungsstillstand ein. Der Druck im rechten Herzen stieg nach Injektion von 5-HT rasch an.

Bei Durchblutungsmessungen an mit Chloralose bzw. Chloralose-Urethan narkotisierten Hunden mit der Reinschen Stromuhr konnte festgestellt werden, daß die i.a. Verabfolgung von 1,0 mg 5-HT (durch einen Seitenast rückläufig in die A. femoralis injiziert) das Stromvolumen in der A. und V. femoralis derselben Seite steigerte. Die gleiche Dosis — bei diesen 20 kg schweren Hunden i.v. injiziert (50 γ/kg) — führte in den Arterien zu einer vorübergehenden Abnahme der Durchblutung, der eine mäßige Zunahme folgte, während in den Venen das Stromvolumen meistens vermindert wurde. In Chloralosenarkose (ohne Urethan) reagierten die Hunde auf i.v. 5-HT-Injektionen mit Blutdrucksteigerung — wie

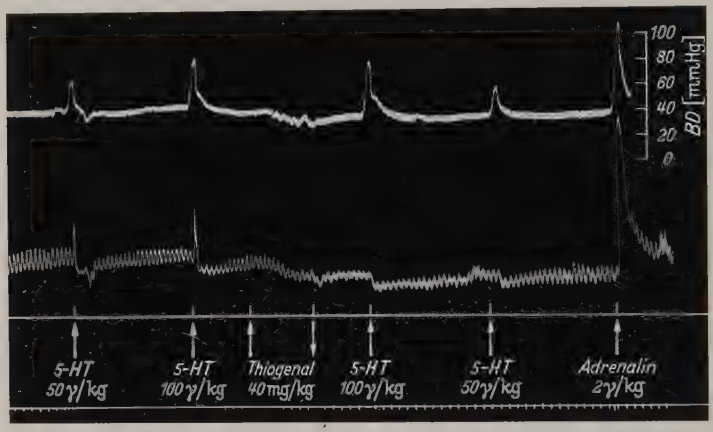


Abb. 4. 5-HT-Wirkung auf Blutdruck und Milz der nach Sherrington dekapitierten Katze vor und nach Thiogenalinjektion. Die Zacken in der Milzkurve sind nur scheinbar Milzkontraktionen, sie rühren von den durch 5-HT bewirkten intensiven Darmkontraktionen her. Zeitschreibung: Minuten

im Wachzustand — und mit kurz (etwa 30 sec) dauernder Durchflußverminderung in den Aa. vertebralis und femoralis mit nachfolgender leichter Zunahme und ebenso lang dauernder Abnahme in der V. renalis und mit länger (etwa 4 min) anhaltender Abnahme der Durchblutung in der V. portae. Wurde einem solchen Hund nun Thiogenal injiziert, so kam es zu einer Umkehr der 5-HT-Wirkung am Blutdruck und zu keiner Durchflußverminderung mehr bei den erwähnten Gefäßen; die leichte Durchblutungsförderung, die das i.v. injizierte 5-HT in den Arterien bewirkt hatte, blieb dagegen auch nach Thiogenal erhalten (Abb. 3).

Um die Beteiligung der nicht spinalen Kreislaufzentren an dieser Reaktion zu untersuchen, wurden Versuche an dekapitierten Katzen ausgeführt. Diese reagierten auf i.v. Injektionen von 5-HT (50, 100 und 150 γ/kg) im allgemeinen mit Blutdrucksteigerung und Erschlaffung der Milz. Im Gegensatz zu den Befunden bei mit Thiogenal narkotisierten Tieren blieb bei den nach Sherrington dekapitierten Katzen der pressorische 5-HT-Effekt nach Injektion von Thiogenal (40 mg/kg i.v.)

unverändert, ein Beweis dafür, daß die depressorische 5-HT-Wirkung bei narkotisierten Tieren über eine zentrale Beeinflussung des Kreislaufs erfolgen muß (Abb. 4). Nach Dale dekapitierte Katzen, die in der Regel einen höheren Blutdruck als erstere und damit noch einen Gefäßtonus aufwiesen, reagierten dagegen anders: an solchen Katzen gelang mit Thiogenal die Umkehr der pressorischen 5-HT-Wirkung in eine depressorische. Es scheint, daß bei dieser Dekapitierungsmethode mit dem erhaltenen N. vagus auch noch gewisse nervale Zentren intakt bleiben können.

In weiteren Experimenten versuchten wir, dieses Phänomen zu analysieren und suchten nach Stoffen, mit denen eine Unterdrückung der oben beschriebenen umgekehrten d. h. depressorischen 5-HT-Wirkung möglich wäre. Als Narkotica wurden bei diesen Experimenten an Hunden und Katzen Thiogenal und Pernocton verwendet.

Die durchschnittlichen Narkose- bzw. Schlafzeiten bei den Carotisschlingenhunden betrugen nach 30 mg/kg Thiogenal 9 bzw. 22 min und nach 40 mg/kg Thiogenal 16 bzw. 33 min (Mittelwerte aus 74 Versuchen).

II. Beeinflussung der 5-HT-Wirkung durch Pharmaka

1. Yohimbin. Yohimbinhydrochlorid 0,075 mg/kg i.v. wirkte bei Carotisschlingenhunden teils abschwächend, teils verhindernd auf die Umkehr der 5-HT-Wirkung in Thiogenalnarkose. Durch die gleichzeitige analeptische Wirkung des Yohimbins wurde die Thiogenalnarkose abgeflacht und um die Hälfte verkürzt; die 5-HT-Wirkung stellte sich ähnlich dar wie bei aus der Narkose erwachenden Tieren.

Bei mit Pernocton narkotisierten Hunden war Yohimbin in der Dosierung von 0,5 mg/kg i.v. ohne besondere Wirkung auf die registrierten 5-HT-Effekte. 1,0 und 2,5 mg/kg Yohimbin i.v. führten zu einer kurzdauernden Senkung des arteriellen Blutdruckes (30—85 mm Hg) bei gleichzeitiger Anregung der Atmung. Die pressorische 5-HT-Wirkung erfuhr eine Abschwächung und nach 30 min und später eine Verstärkung. Die biphasische arterielle Blutdruckreaktion wurde in eine depressorische umgeändert und die Blutdrucksteigerung in der rechten Herzkammer sowie die mit Bradypnoe einhergehende Atmungsvertiefung abgeschwächt.

2. Dihydroergotamin und Dihydroergocristin. Dihydroergotamin — 0,25 mg/kg i.v. — verursachte beim wachen Carotisschlingenhund Unruhe, Würgen und gelegentliches Erbrechen. Diese Dosis wurde aber in Thiogenalnarkose — unmittelbar nach Ende der Thiogenalinjektion langsam injiziert — gut vertragen, wozu allerdings eine Erhöhung der Thiogenaldosis von 30 auf 40 mg/kg i.v. notwendig war. Die blut- und capillardrucksenkende 5-HT-Wirkung in Thiogenalnarkose wurde durch Dihydroergotamin abgeschwächt aber nicht aufgehoben. Diese Dihydroergotamin-Dosis verlängerte den Narkosenachschlaf um 15 min.

An mit Pernocton narkotisierten Hunden konnte nach Injektion von Dihydroergocristin (0,05—0,15 mg/kg i.v.) die blutdrucksenkende 5-HT-Wirkung verstärkt werden, während bei einer von vornherein fehlenden Blutdruckreaktion nachher eine biphasische Wirkung beobachtet wurde; der pressorische 5-HT-Effekt im rechten Herzventrikel wurde abgeschwächt und die Frequenz der Atembewegungen gesteigert. Reagierte

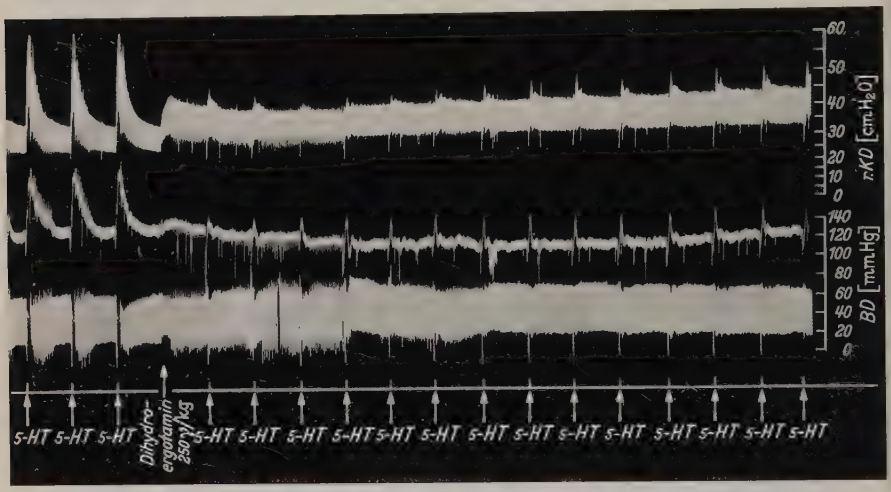


Abb. 5. Beeinflussung der Wirkung von 70 γ/kg 5-HT i.v. durch Dihydroergotamin beim Hund in Pernocton-Narkose. Registrierung — von oben nach unten — des Druckes in der rechten Herzkammer, in der A. femoralis und der Atmung. 5-HT-Injektionen in 10 min-Abständen

ein weniger tief narkotisierter Hund auf 5-HT mit einer Blutdrucksteigerung, so konnte diese durch die i.v. Injektion von 0,1 und 0,25 mg Dihydroergotamin bzw. 0,05—0,25 mg Dihydroergocristin pro Kilogramm abgeschwächt oder in eine Blutdrucksenkung umgekehrt werden bei gleichzeitiger fast vollständiger Abschwächung der 5-HT-Wirkung auf den Druck in der rechten Kammer und auf Atmungsfrequenz und -tiefe (Abb. 5).

Bei mit Chloralose-Urethan narkotisierten Katzen rief 5-HT (100 γ/kg i.v.) am Blutdruck eine starke Senkung (z. B. um 70 mm Hg), am Dünndarm eine intensive kurzdauernde Kontraktion, die von einer 2 min dauernden Lähmung des Darmes gefolgt war, sowie Vertiefung mit anschließendem kurzdauerndem Stillstand der Atmungsbewegungen hervor; die Milz reagierte auf 5-HT mit einer leichten Entspannung. Dihydroergocristin (0,1 mg/kg i.v.) steigerte bei Katzen die 5-HT-Wirkung am Darm (längere Dauer der Kontraktion) und am Blutdruck. Demgegenüber wurde hierdurch die pressorische und milzkontrahierende Wirkung von Adrenalin (3 γ/kg i.v.) fast vollständig aufgehoben. Entsprechend war der Befund nach i.v. Injektion von Dihydroergotamin (0,1 mg/kg

i.v.) oder Dihydroergocristin (0,3 mg/kg i.v.), nur wurde dann die Peristaltik des Dünndarmes noch abgeschwächt. Selbst in Dosen von 1 mg/kg i.v. vermochten Dihydroergotamin und Dihydroergocristin nicht eine durch 25 γ/kg 5-HT bei Katzen ausgelöste Blutdrucksenkung abzuschwächen, sondern verstärkten sogar diese Reaktion. Beide Präparate wirkten allein verabreicht leicht pressorisch (20 mm Hg). Intravenöse Gaben von 50 und 100 γ/kg 5-HT führten bei nach Dale dekapitierten Katzen zu einer Blutdrucksteigerung bis um 85 mm Hg, wobei sich die Milz entspannte und ihre Rhythmik abgeschwächt wurde. Mit Dihydroergocristin und Dihydroergotamin konnte in Dosen von 0,05—0,15 mg/kg i.v. der pressorische Effekt des 5-HT bis um ein Drittel abgeschwächt werden, es wurde aber auch gelegentlich mit Dihydroergotamin eine zunächst depressorische in eine pressorische 5-HT-Wirkung umgewandelt. Beide hydrierten Mutterkornalkaloide entfalteten hierbei die bekannte starke pressorische Wirkung (bis um 130 mm Hg) und führten zu einer mehrere Minuten anhaltenden Kontraktion der Milz. Dihydroergotamin schwächte den 5-HT-Effekt am Blutdruck stärker ab als Dihydroergocristin. Eine 2. und 3. Injektion jedes der beiden Pharmaka führte fast regelmäßig zu einer Abschwächung der Anti-5-HT-Wirkung und der eigenen pressorischen Wirkung. In einigen Fällen kam es zu einem Herzstillstand. Durch die hohe Dosis von 0,25 mg/kg Dihydroergotamin i.v. konnte die pressorische 5-HT-Wirkung am arteriellen Blutdruck in eine depressorische umgekehrt werden.

3. Atropin. Atropinsulfat, bei Carotisschlingenhunden in Dosen von 0,5 mg/kg innerhalb von 15 min i.v. infundiert, verursachte Tachykardie und Einengung der Blutdruckamplitude. Die Dauer einer 10 min danach durchgeführten Thiogenalnarkose war um 50%, die des Nachschlafes um 100% gegenüber der Norm verlängert. Die umgekehrte 5-HT-Wirkung am Blutdruck blieb dabei unbeeinflußt.

4. Azamethoniumbromid. Von dem Ganglioplegicum Azamethoniumbromid wurden den Carotisschlingenhunden 2 mg/kg i.v. injiziert, in 4 Versuchen während, in einem Versuche vor der Thiogenalnarkose. Der Nachschlaf wurde dadurch um etwa 50% verlängert. Weder die umgekehrte Blutdruckreaktion auf 5-HT beim narkotisierten noch die pressorische beim wachen Hund wurden durch die Azamethoniumgabe beeinflußt.

5. Ilvin. Intravenöse Infusionen von 5—10 mg/kg des Antihistaminicums Ilvin führten bei wachen Hunden zu einer beachtlichen Verstärkung der blutdrucksteigernden Wirkung von 5-HT. Während der anschließenden Narkose mit 30 und auch mit 40 mg Thiogenal pro Kilogramm i.v. kam es nie zu einer Umkehr der 5-HT-Wirkung am Blutdruck, sondern immer nur zu einer Abschwächung der pressorischen Wirkung.

6. Chlorpromazin. 3 mg Chlorpromazin pro Kilogramm i.v. verursachten Abschwächung bzw. Umkehr der 5-HT-Wirkung beim wachen Hund. Eine 20 min später eingeleitete Thiogenalnarkose führte bei zwei Hunden, die unmittelbar vorher nur einen abgeschwächten 5-HT-Effekt gezeigt hatten, auch jetzt noch zu einer Umkehr der 5-HT-Wirkung. Die Thiogenalnarkose sowie die Umkehr des 5-HT-Blutdruck-Effektes während der Thiogenalnarkose hielten bei diesen mit Chlorpromazin vorbehandelten Hunden durch die Vertiefung der Narkose etwa fünfmal länger an als bei den Versuchen ohne Prämedikation.

7. Bulbocapnin. Bulbocapninhydrochlorid verursachte beim wachen Hund in Dosen von 2—3 mg/kg i.v. eine Abschwächung der blutdrucksteigernden und eine Verstärkung der pulsfrequenzerhöhenden 5-HT-Wirkung. 1,5 mg/kg verlängerten die anschließend eingeleitete Thiogenalnarkose auf mehr als das Doppelte der normalen Narkosedauer. Während dieser Zeit war die 5-HT-Wirkung depressorisch.

Beim Hund in Pernocton-Narkose wurde nach der Injektion von Bulbocapnin (0,5—2 mg/kg i.v.) der arterielle Blutdruck um 10—20 mm Hg gesenkt. Der Blutdruck in der rechten Kammer blieb entweder unverändert oder angedeutet erhöht. 0,5 mg/kg Bulbocapnin beeinflußten die Atemfrequenz nicht, während 1—2 mg/kg i.v. zu einem Atmungsstillstand führten. Die 5-HT-Wirkung wurde durch Bulbocapnin folgendermaßen verändert: 5 min nach Injektion von Bulbocapnin in den oben aufgeführten Dosen war in jedem Fall eine geringere Blutdrucksteigerung im rechten Vorhof als vor der Bulbocapningabe und eine Abschwächung des bradykardischen Effektes festzustellen. Auf 0,5 mg/kg Bulbocapnin blieb die Reaktion des arteriellen Blutdruckes und der Atmung auf 5-HT unverändert. Die Wirkung von weiteren in 10minutigen Zeitabständen erfolgenden Injektionen von 5-HT auf den arteriellen Blutdruck sowie auf den Druck im rechten Ventrikel wurde zunehmend stärker. Eine vor der Bulbocapnin-Injektion bestehende langsam einsetzende Blutdrucksenkung durch 5-HT konnte in einen steilen Abfall, gefolgt von einem starken Anstieg, verändert werden. Die künstliche Atmung verstärkte diese Veränderung. Bulbocapnin wirkte also am Kreislauf kurzdauernd antagonistisch und danach langsam einsetzend, langanhaltend sensibilisierend für 5-HT.

8. Harmin. Harmin-isäthionat — in Dosen von 0,25 mg/kg 20 min vor Beginn der Thiogenalinjektion i.v. injiziert — bewirkte weder eine Änderung der 5-HT-Wirkung bei wachen noch eine Beeinflussung der Umkehr bei mit Thiogenal narkotisierten Carotisschlingenhunden. Lediglich der Nachschlaf war um 15 min verlängert.

Auch bei mit Pernocton narkotisierten Hunden waren 0,5 mg/kg Harminisäthionat i.v. ohne besondere Wirkung auf die durch 5-HT ausgelösten Reaktionen. Erst 1 mg/kg Harminisäthionat i.v. senkte in diesen

Versuchen den Blutdruck in der A. carotis und im rechten Ventrikel anhaltend und regte gleichzeitig die Atmung an. Ähnlich wie mit Bulbocapnin wurde die 5-HT-Wirkung durch die Vorbehandlung der Tiere mit Harminisäthionat zunächst abgeschwächt, nach Ablauf von 30 min erfolgte aber eine Sensibilisierung für 5-HT.

9. 1,4-Dihydrazinophthalazin. 1,4-Dihydrazinophthalazinsulfat wurde den nüchternen Carotisschlingenhunden durch einen vor Beginn des Versuches durch das Maul in den Magen eingeführten PVC-Schlauch nach wiederholter Prüfung der 5-HT-Reaktion als Suspension in einer Dosis von 2 mg/kg verabfolgt. Es führte eine lang anhaltende, von Pulsbeschleunigung begleitete Blutdrucksenkung herbei. Die 5-HT-Wirkung am Blutdruck war in allen Versuchen abgeschwächt, in einem Versuch sogar umgekehrt. An Hunden mit beidseitigen Carotisschlingen konnten wir beobachten, daß die Verminderung der 5-HT-Reaktion von einer etwa ebenso starken Verringerung der pressorischen Reaktion auf Carotissinusentlastung begleitet war.

10. Natriumazid. 0,2 mg Natriumazid pro Kilogramm — als wäßrige Lösung in gleicher Weise wie das Dihydrazinophthalazin per os verabfolgt — wirkte ganz ähnlich wie das Dihydrazinophthalazin, nur kürzer anhaltend; auch hier war eine parallel verlaufende Abschwächung des Carotissinusentlastungsreflexes nachweisbar.

11. Psicain-Neu. Psicain-Neu wurde Carotisschlingenhunden in Dosen von 2 mg/kg i.v. injiziert und zwar 8 min nach Beginn der Thiogenalnarkose unmittelbar vor einer 5-HT-Injektion. Diese führte dann in allen Fällen zu dem gewohnten Blutdruckabfall. Den durch Veratridin ausgelösten Bezold-Jarisch-Reflex dagegen konnten wir mit dieser Psicain-Neu-Dosis bei wachen und bei mit Thiogenal narkotisierten Hunden unterdrücken.

12. Methamphetamin. Methamphetaminhydrochlorid — bei einem Carotisschlingenhund in einer Dosis von 0,1 mg/kg vor Beginn der Narkose (40 mg Thiogenal pro Kilogramm i.v.) i.v. injiziert — rief keine Verkürzung der Narkose und auch keine Änderung der 5-HT-Umkehr hervor. In einem zweiten Versuch wurden 0,075 mg Methamphetamin pro Kilogramm unmittelbar nach Einleitung der Narkose (40 mg Thiogenal pro Kilogramm i.v.) i.v. injiziert; dadurch kam es zu einer Verkürzung der Narkosedauer auf die halbe Zeit, die 5-HT-Umkehr blieb trotzdem erhalten.

13. 4-Aminopyridin. Wurden 0,75 mg 4-Aminopyridin (ein in dieser Dosis stark analeptisch wirkendes Mittel) Carotisschlingenhunden unmittelbar nach Ende der Thiogenalinjektion i.v. injiziert, so kam es zu einer Abkürzung der Narkosedauer auf die Hälfte der normalen Zeit und zu einer Aufhebung der 5-HT-Umkehr am Blutdruck. Bei wachen Hunden

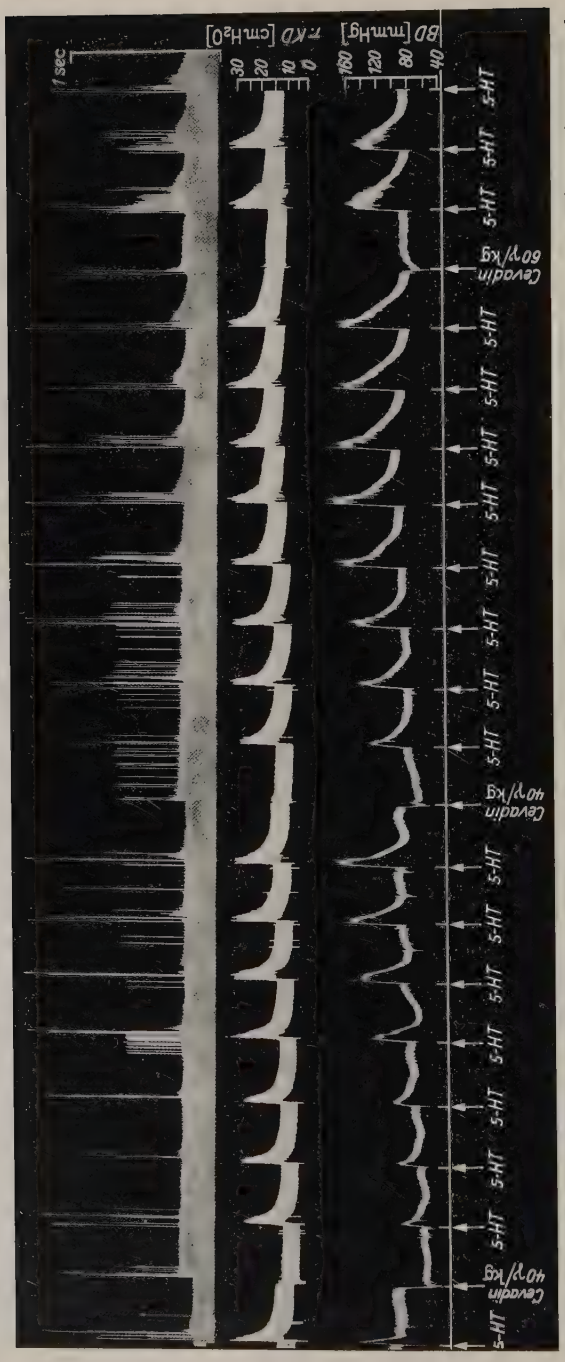


Abb. 6. Beeinflussung der Wirkung von 100 γ/kg 5-HT i.v. durch Cevadin beim Hund in Pernocton-Narkose. Registrierung — von oben nach unten — der Pulsdauer, des Druckes in der rechten Herzkammer und des Blutdruckes in der A. femoralis. 5-HT-Injektionen in 10 min-Abständen

führten 0,75 mg 4-Aminopyridin pro Kilogramm i.v. zu keiner Änderung der Wirkung von nachfolgend injiziertem 5-HT.

14. Belladonnin. Belladonninbisulfat mit Pernocton narkotisierten Hunden in Dosen von 10,0 mg/kg in 8 min i.v. injiziert senkte den arteriellen Blutdruck stark (um 60—80 mm Hg) und anhaltend (bis 70 min), erhöhte den Druck in der rechten Kammer und regte die Atmung an. Belladonnin vermag hierbei den pressorischen 5-HT-Effekt abzuschwächen, aber auch den depressorischen in einen blutdrucksteigernden umzuwandeln. Belladonnin sensibilisierte die Versuchstiere nur dann auf 5-HT, wenn vorher eine Blutdrucksenkung mit Abschwächung der 5-HT-Effekte vorhanden war.

15. Cevadin. Mit Hilfe des Cevadins und des Veratridins sollte an mit Pernocton narkotisierten Hunden geklärt werden, ob die 5-HT-Wirkung am Blutdruck und am Herzen als ein Bezold-Jarisch-Reflex betrachtet werden kann. In unseren Versuchen zeigte sich aber, daß Cevadin und Veratridin ganz anders als 5-HT wirkten. An mit Pernocton narkotisierten Hunden konnte nach Injektion von Cevadin (20, 30, 40, 60, 80 γ/kg i.v.) eine 1—2 min dauernde Senkung des arteriellen Blutdruckes um 40—120 mm Hg, aber praktisch keine Änderung des Druckes im rechten Vorhof oder Ventrikel festgestellt werden. Die Atmung setzte nach der Cevadin-Injektion kurzzeitig ($^1/_4$—$^1/_2$ min) aus, anschließend setzte sie flach und frequent (z. B. mit 34 Atemzügen/min statt vorher 18) wieder ein. Im Gegensatz zur 5-HT-Reaktion fehlten beim Cevadin die vertieften Atemzüge vor der Atempause. Die 5-HT-Wirkung (30, 50, 100 γ/kg i.v.) am Blutdruck und an der Atmung blieb dann unverändert, wenn die durch Cevadin ausgelöste Blutdrucksenkung nur kurz dauerte. Hielt sie länger an, so wurde der 5-HT-Effekt zuerst abgeschwächt, dann anschließend verstärkt. Nur ein Hund von den 7 reagierte auf 5-HT mit einer Blutdrucksenkung, die übrigen mit einer Steigerung bzw. biphasischen Reaktion (Abb. 6).

16. Veratridin. 15—25 γ/kg Veratridin — Hunden in Pernocton-Narkose i.v. injiziert — senkten den arteriellen Blutdruck jäh und stark (bis um 140 mm Hg) und für längere Zeit (20—100 min), lösten eine Abflachung der Atmung und gelegentlich einen Atmungsstillstand und Tachypnoe aus. Der Blutdruck im rechten Vorhof blieb entweder unverändert oder wurde leicht erhöht.

Veratridin veränderte in dieser Dosierung den 5-HT-Effekt. Es konnte sowohl eine Abschwächung als auch eine Steigerung der 5-HT-Wirkung festgestellt werden. In der Regel wurde die Drucksteigerung im rechten Vorhof auf 5-HT abgeschwächt, die Atmung angeregt und bei Fehlen einer 5-HT-Wirkung am Blutdruck eine biphasische Reaktion ausgelöst. Auffallend war, daß durch die Veratridin-Injektion besonders die biphasische 5-HT-Wirkung am Blutdruck verstärkt wurde, am deutlichsten,

wenn vorher der Blutdruck auf 5-HT nicht reagiert hatte. Bei einem Hund fehlte nach 50 γ/kg 5-HT eine Wirkung am arteriellen Blutdruck, während die Drucksteigerung in der rechten Kammer stark ausgeprägt war. Nach 2 und mehr 5-HT-Gaben nach der Veratridin-Injektion erfolgte eine Steigerung der 5-HT-Wirkung.

17. Adrenalin. Mit Thiogenal (40 mg/kg i.v.) narkotisierte Katzen können nach Vorbehandlung mit Adrenalin (wiederholte Injektionen von 5 γ/kg Adrenalin i.v.) auf i.v. Injektionen von 5-HT (50, 100 und 150 γ/kg i.v.) mit Blutdrucksteigerung reagieren; bei Carotisschlingenhunden, die eine Thiogenaldauerinfusion erhielten, konnte dieser Befund nicht reproduziert werden.

Besprechung

Wir haben nachgewiesen, daß die blutdrucksenkende Wirkung von 5-HT beim Hund in Barbiturat- bzw. Thiobarbituratnarkose weder durch Ganglioplegica noch durch Parasympatholytica noch durch Lokalanaesthetica verhindert werden kann. Bei den in unseren Versuchen antagonistisch wirkenden Stoffen lassen sich unterscheiden:

1. solche, die zu einer Abflachung der Narkose führten (4-Aminopyridin, Yohimbin, Ilvin) von

2. solchen, die durch Beeinflussung des Gefäßmuskeltonus die Ansprechbarkeit des Gefäßsystems auf 5-HT änderten (4-Aminopyridin, Belladonnin, Dihydroergotamin, Dihydroergocristin, Cevadin, Veratridin und Adrenalin).

Von diesen Substanzen beeinflußten Dihydroergocristin und Dihydroergotamin die Narkosetiefe nicht wesentlich, nur hohe Dosen von Dihydroergotamin verlängerten den Nachschlaf nach Thiogenalnarkosen bei Hunden. Synergistisch — durch Vertiefung der Narkose — wirkte Chlorpromazin. Harmin, Bulbocapnin, Cevadin und Veratridin wirkten auf die pressorische Wirkung von 5-HT zunächst antagonistisch, anschließend sensibilisierend. Hunde in Chloralosenarkose reagierten auf 5-HT in gleicher Weise wie wache.

Auf Grund unserer Versuche möchten wir die unterschiedliche 5-HT-Wirkung beim wachen und narkotisierten Tier folgendermaßen erklären: die 5-HT-Wirkung beim Hund besteht aus zwei gegensinnigen Komponenten, einer überwiegend gefäßerweiternden mit peripherem Angriffspunkt (verschiedene Gefäßgebiete können dabei unterschiedlich reagieren, siehe Bock u. Mitarb.) und einer gefäßverengenden, die reflektorisch vom Carotissinus (siehe später) über das Zentralnervensystem ausgelöst wird; beim wachen Hund kommt durch Überwiegen der reflektorischen Wirkungskomponente ein blutdrucksteigernder, beim mit Barbituraten narkotisierten Tier durch Anlähmung des die Blutdrucksteigerung vermittelnden Reflexmechanismus kein pressorischer Effekt mehr zustande.

In diesem Zusammenhang müssen auch die in der vorderen Hirnrindenregion gelegenen übergeordneten Kreislaufzentren erwähnt werden, deren elektrische Reizung den Blutdruck bei Hunden in Äthernarkose überwiegend steigerte, dagegen in Pentobarbitalnarkose vorwiegend senkte (Langford und Mitarbeiter). Auf die

Existenz einer Mehrzahl kreislaufwirksamer Areale in der Hirnrinde hat auch Christian hingewiesen. Gangloff u. Monnier haben Beeinflussungen der Cortexaktivität durch i.v. injiziertes 5-HT in elektroencephalographischen Versuchen an wachen Kaninchen nachgewiesen.

Das Verständnis der unterschiedlichen Gefäßreaktionen wird durch die ambivalente Wirkung des 5-HT auf die Gefäßmuskulatur erschwert. Intraarteriell injiziertes 5-HT förderte bei narkotisierten Hunden die Durchblutung der Extremitäten. Nach Sherrington dekapitierte Katzen, deren Gefäßsystem maximal erschlafft ist, reagieren dagegen auf 5-HT mit einer Vasoconstriction (Blutdrucksteigerung); daß diese nichts mit der beim intakten Tier beobachteten Blutdruckerhöhung nach 5-HT zu tun hat, geht daraus hervor, daß nur beim intakten, nicht aber beim dekapitierten Tier die pressorische 5-HT-Wirkung durch Thiogenal beeinflußt werden kann. Beim wachen Hund sowie am Hund in Chloralose- oder flacher Barbiturat-Narkose wird die oben besprochene direkte gefäßdilatierende von der reflektorischen kontrahierenden Wirkung überlagert. Bei Hunden in Barbituratnarkose ist der Carotissinusentlastungsreflex abgeschwächt (Schroeder u. Anschütz; Koppermann u. Mitarb. sowie eigene Befunde) und die pressorische 5-HT-Wirkung abgeschwächt, aufgehoben oder umgekehrt. In Chloralosenarkose reagiert der Kreislauf sowohl auf Carotissinusentlastung als auch auf 5-HT in gleicher Weise wie beim wachen Hund.

Den Nachweis, daß 5-HT über eine Erregung der Chemoreceptoren des Carotissinus zur Blutdrucksteigerung führt, haben McCubbin u. Mitarb. an Hunden erbracht. Sie konnten die gleiche depressorische 5-HT-Wirkung, die wir durch Vertiefung der Barbituratnarkose erreichten, durch vorübergehende Umschaltung der Carotissinusdurchblutung auf einen Spenderhund demonstrieren. Ein ähnliches Beispiel für die Möglichkeit der Umkehr einer blutdrucksteigernden Wirkung durch tiefe Narkose in eine blutdrucksenkende hat King mit seinen CO_2-Inhalationsversuchen an Hunden geliefert.

Wir versuchten festzustellen, ob die depressorische Wirkung von 5-HT beim narkotisierten Hund auf den während der Narkose erhöhten peripheren Widerstand (berechnet nach Wezler u. Böger) zurückgeführt werden kann, wobei wir an die von Page geäußerte Meinung, daß bei erhöhtem neurogenem Vasoconstrictorentonus 5-HT einen Blutdruckabfall bewirkte, anknüpften. Wir konnten aber bei wachen Hunden, deren neurogener Vasoconstrictorentonus durch Methamphetamin oder durch 4-Aminopyridin — eine anhaltend analeptisch und blutdrucksteigernd wirkende Verbindung — erhöht worden war, keine depressorische 5-HT-Wirkung beobachten. Deshalb neigen wir zu der Annahme, daß die in den Versuchen von Page nach Carotissinusdenervierung veränderte 5-HT-Wirkung nicht nur auf einen erhöhten Vasoconstrictorentonus, sondern auch auf die Ausschaltung der Chemoreceptoren des Carotissinus zurückgeführt werden kann.

Im Sinne von Page können wir zum Teil unsere Befunde mit Belladonnin deuten, insofern als dieses durch Abschwächung des neurogenen Vasoconstrictorentonus eine Umkehr der vorher depressorischen in eine pressorische 5-HT-Wirkung hervorrief.

Die Frage, ob die Blutdrucksenkung nach 5-HT in Thiogenalnarkose bei Hunden auf einer Histaminfreisetzung beruht, versuchten wir durch Vorbehandlung der Tiere mit dem Antihistaminicum Ilvin zu klären. Ilvin wirkte analeptisch und verursachte beim wachen Hund eine beträchtliche Verstärkung der blutdrucksteigernden Wirkung des 5-HT; die Ausgangslage wurde dadurch so weitgehend verändert, daß eine sichere Beurteilung der Versuchsresultate nicht möglich ist. Keinesfalls möchten wir aus dem Befund, daß 5-HT nach Ilvin in Thiogenalnarkose nicht blutdrucksenkend wirkte, den Schluß ziehen, daß die depressorische Wirkung von 5-HT beim narkotisierten Tier auf einer Histaminfreisetzung beruht.

Einen Bezold-Jarisch-Reflex als maßgebliche Ursache der Blutdrucksenkung konnten wir dadurch ausschließen, daß diese auch nach vorheriger Injektion des Lokalanaestheticums Psicain-Neu auftrat. Der beim narkotisierten Hund durch Cevadin oder Veratridin ausgelöste Bezold-Jarisch-Reflex ging mit Stillstand und anschließender Beschleunigung der Atmung einher, während 5-HT zu einer mehr oder weniger vertieften Atmung führte. Der Druck im rechten Herzen wurde durch 5-HT erhöht, durch Cevadin oder Veratridin — sofern kein länger dauernder Atemstillstand eintrat — kaum beeinflußt. Die Abschwächung der pressorischen Wirkung von 5-HT durch Cevadin erklären wir mit dessen starker lokalanaesthetischer Wirksamkeit (Herr u. Mitarb.); vielleicht handelt es sich dabei um eine Lähmung von für 5-HT empfindlichen Receptoren, z. B. Chemoreceptoren. In diesem Zusammenhang ist es von Bedeutung, daß Cevadin ähnlich wie 5-HT in geeigneter Dosierung beim wachen Hund pressorisch, beim narkotisierten Hund depressorisch wirken kann (Roesch 1954).

Hydrazinophthalazin, das von Taylor u. Mitarb. sowie von Naess u. Skramstad als spezifischer Antagonist von 5-HT bezeichnet wurde, scheint nach unseren Versuchen die Ansprechbarkeit des Kreislaufsystems insbesondere der Gefäßmuskulatur auf kontraktionsauslösende Reize allgemein zu hemmen, da bei wachen Hunden — ähnlich wie vom Natriumazid — die durch 5-HT bewirkten Blutdrucksteigerungen in gleichem Maße wie die durch Carotissinusentlastung ausgelösten abgeschwächt wurden. Wir möchten daher — ebenso wie Erspamer — Hydrazinophthalazin nicht als spezifischen 5-HT-Antagonisten bezeichnen.

Von den in den vorliegenden Versuchen geprüften Substanzen hat keine eine rein antagonistische Wirkung gegenüber den 5-HT-Effekten am Kreislauf gezeigt; sie rufen auf verschiedenste Weise eine Abschwächung der Reaktion auf 5-HT hervor. Lysergsäurediäthylamid haben wir in unsere Versuche nicht einbezogen.

Auf Grund unserer Befunde über die 5-HT-Wirkung am Kreislauf von narkotisierten Tieren scheint es uns nicht empfehlenswert zu sein, 5-HT zur Narkosevertiefung klinisch anzuwenden (vgl. Pierre u. Cahn).

Zusammenfassung

1. Die bei wachen Hunden blutdrucksteigernde, den peripheren und elastischen Gesamtwiderstand erhöhende sowie Schlag- und Minutenvolumen verringernde Wirkung von intravenös injiziertem 5-Hydroxytryptamin wurde durch Thiogenal-, Thiopental- oder Hexobarbital-Natrium-Narkose in eine blutdrucksenkende, widerstandsvermindernde, Schlag- und Minutenvolumen vergrößernde Wirkung umgekehrt.

2. Mit Chloralose narkotisierte Hunde reagierten auf 5-Hydroxytryptamin mit Blutdrucksteigerung (wie wache Hunde) und mit gleichzeitiger Abnahme des Blutstromvolumens in verschiedenen Kreislaufgebieten; nach Thiogenal wirkte 5-Hydroxytryptamin auch bei diesen Hunden depressorisch und rief keine Durchblutungsabnahme mehr hervor.

3. Natriumazid und Hydrazinophthalazin schwächten — ohne narkotisch zu wirken — den Carotissinusreflex ab und verminderten zugleich die blutdrucksteigernde Wirkung von 5-Hydroxytryptamin.

4. Die Präparate, die die depressorische Wirkung von 5-Hydroxytryptamin bei narkotisierten Hunden abschwächten oder verhinderten (Yohimbin, 4-Aminopyridin, Ilvin), wirkten gleichzeitig narkoseabflachend, mit Ausnahme von Dihydroergotamin.

5. Atropin, Azamethonium und Psicain-Neu verhinderten nicht die blutdrucksenkende Wirkung von 5-Hydroxytryptamin bei narkotisierten Hunden.

6. Cevadin, Veratridin, Belladonnin, Bulbocapnin und Harmin konnten bei mit Pernocton narkotisierten Hunden die 5-Hydroxytryptamin-Wirkung am Blutdruck den jeweiligen Bedingungen entsprechend sowohl antagonistisch als auch sensibilisierend beeinflussen.

7. Verschiedene Möglichkeiten, die in Versuchen an Hunden und Katzen beobachtete Wirkung von 5-Hydroxytryptamin auf den Kreislauf zu erklären, werden diskutiert.

Literatur

Bein, H. J., F. Gross, J. Tripod u. R. Meier: Schweiz. med. Wschr. **1953**, 336.
Bock, K. D., H. Dengler, H. M. Kuhn u. K. Matthes: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **230**, 257 (1957).
Christian, P.: Arch. Kreislaufforsch. **21**, 174 (1954).
Erspamer, V.: Arch. Int. Med. **90**, 505 (1952), zit. n. Bein.
Forst, A. W., M. Reiter u. K. Heuwing: Z. Biol. **107**, 206 (1954).
Gangloff, H., u. M. Monnier: Helvet. physiol. Acta **15**, 83 (1957).
Hampel, A.: Pflügers Arch. **244**, 171 (1940/41).
Herr, F., J. Borsi u. J. Szegi: Acta physiol. (Budapest) **6**, 363 (1954).

Hotovy, R., u. E. Roesch: Symposium sobre „Hipertension arterial", 3.—4. 6. 1955, Barcelona.
King, C. E.: Amer. J. Physiol. **105**, 62 (1933).
Koppermann, E., W. Brendel u. R. Thauer: Pflügers Arch. **260**, 239 (1955).
Langford, H. C., M. Bernhaut u. E. C. Hoff: Proc. Soc. Exper. Biol. a. Med. **87**, 561 (1954).
McCubbin, J. W., J. H. Green, G. C. Salmoiraghi and I. H. Page: J. Pharmacol. a. Exper. Ther. **116**, 191 (1956).
Naess, K., u. K. H. Skramstad: Acta pharmac. tox., K'hvn **10**, 178 (1954).
Page, I. H., and J. W. McCubbin: Circulation Research **1**, 354 (1953).
Pierre, R., and J. Cahn: Anest. et Analg. Paris **13**, 723 (1956).
Riechert, W., u. H. Schmieder: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **198**, 121 (1941).
Roesch, E.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **222**, 209 (1954); **226**, 518 (1955).
Schroeder, W.: Arch. Kreislaufforsch. **15**, 24 (1949). — Z. Biol. **103**, 389 (1950). — Persönliche Mitteilung (1956).
Schroeder, W., u. F. Anschütz: Z. exper. Med. **117**, 37 (1951).
Taylor, R. D., I. H. Page and A. C. Corcoran: Arch. Int. Med. **88**, 1 (1951).
Wever, R., u. J. Aschoff: Pflügers Arch. **262**, 152 (1956).
Wezler, K., u. A. Böger: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **184**, 482 (1937).

Priv.-Doz. Dr. R. Hotovy und Dr. E. Roesch, Darmstadt,
Forschungslaboratorien der E. Merck A.-G., Pharmakologische Abteilung

Arch. exper. Path. u. Pharmakol., Bd. 232, S. 387—392 (1958)

Aus der Medizinischen Universitätsklinik Freiburg i. Brsg.
(Direktor: Prof. Dr. Dr. h. c. L. Heilmeyer)

Die colorimetrische Bestimmung von ADP und ATP im menschlichen Blut

Von
J. Pirwitz, E. Haaf und H. Th. A. Schmitt

Mit 2 Textabbildungen

(Eingegangen am 3. Juli 1957)

Um die klinische Bedeutung der ATP im Blut festzulegen, war mit Serienuntersuchungen größeren Ausmaßes zu rechnen. Wir suchten daher unter den bekannten Bestimmungsmethoden eine hierfür geeignete. Einen vollständigen Überblick über diese geben Boettge, Jaeger u. Mittenzwei in ihrer Übersichtsarbeit. Der Zeitaufwand, der bei einem Teil der beschriebenen Methoden notwendig war, und die Ungenauigkeit, die einem anderen Teil anhaftete, veranlaßten uns jedoch, eine Beobachtung von Woodhouse aufzugreifen, nach der Adeninderivate durch Zinkstaub reduziert als einzige von allen Purinen diazotierbar wurden. Die Reaktion ist relativ spezifisch. Von allen im Organismus bekannten Substanzen gibt nur noch Folsäure dieselbe Reaktion. Da diese aber nur in Konzentrationen von 3 γ-% im Blut vorhanden ist, die Konzentration der ATP nach den bisherigen Angaben das 1000—10000fache beträgt, kann die Mitbestimmung nicht zu quantitativ falschen Resultaten führen.

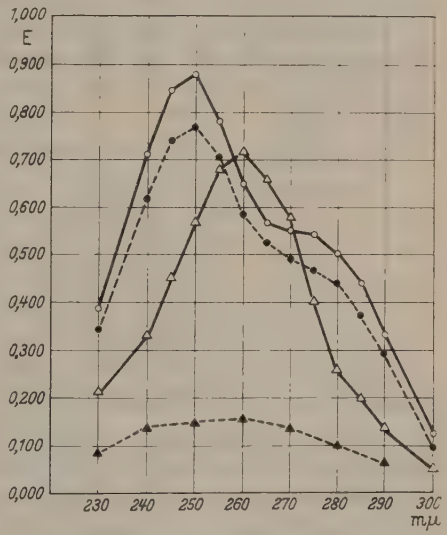


Abb. 1
○——○ Guaninlösung nicht red. •-----• Guaninlösung mit Zn red. △——△ Adeninlösung nicht red. ▲----▲ Adeninlösung mit Zn red.

Wir kontrollierten nun zunächst die Befunde von Woodhouse an 4 reinen Purinlösungen und fanden hierbei bestätigt, daß nur die spektrophotometrische Kurve des Adenins durch die Zinkstaubreduktion eine typische Veränderung erfährt.

In Abb. 1 sind die spektrophotometrischen Kurven von Guanid in und Adenin vor und nach Reduktion mit Zinkstaub zur Veranschaulichung wiedergegeben. Aus dem Verlust der Purinspezifität der Adeninkurve nach Reduktion mit Zinkstaub darf wohl gefolgert werden, daß durch die Reduktion Veränderungen im Adeninmolekül erfolgen, die zu einem Verlust der Doppelbindungen führen.

Zur Diazotierung des reduzierten Adeninmoleküls bedienten wir uns der von Bratton u. Marshall angegebenen Methode, die diese zur Bestimmung von Sulfonamiden verwandten. Als koppelndes und farbgebendes Reagens benutzten sie das N-N-dimethyl-naphthylamin. Die Diazotierung erfolgt dabei in üblicher Weise mit Na-Nitrit. Überschüssiges Nitrit wird mittels Ammoniumsulfamat abgebunden und so das Auftreten störender Nitroseverbindungen verhindert.

Als weiteres Problem stellte sich uns die Frage nach einem spezifischen Fällungsmittel für ATP. Ein solches gibt es unseres Wissens nicht. Elektiv fällen lassen sich aber ATP und ADP gemeinsam mittels Bariumacetat, das die anderen Adeninderivate in Lösung läßt.

Auf Grund dieser Überlegungen erhielten wir eine relativ einfache Bestimmungsmethodik für die Summe von ATP + ADP. Die gefundenen Werte beziehen sich also auf den gemeinsamen Adeningehalt von ADP und ATP.

Im folgenden sei das methodische Vorgehen kurz skizziert:

Reagentien:	3,93% Ba-Acetat	2 n-Schwefelsäure
	25,0 % Ba-Acetat	5 n-Schwefelsäure
	10,0 % Trichloressigsäure	1 n-Natronlauge
	1,0 % Phenolphthalein	Zinkstaub p.a.
	0,1 % Na-Nitrit	
	0,5 % Aminosulfonsäure	
	0,1 % Bratton-Marshall-Reagens	

Blutentnahme. Mittels einer sterilen Rekordspritze, in der 0,4 ml der isotonischen 3,93% Ba-Acetatlösung aufgezogen sind, entnimmt man Venenblut und zieht bis zur Marke 2,4 ml auf. Das Gemisch wird in der Spritze kräftig geschüttelt. Hierdurch wird sowohl eine Gerinnungshemmung wie auch eine Stabilisierung der Serum-ATP erreicht.

Eiweißfällung. Zu dem Ba-Acetat-Blutgemisch werden unter ständigem Umrühren 2,0 ml 10% Trichloressigsäure gegeben. Anschließend wird bei 3000 U/min zentrifugiert. Der klare Überstand wird in ein Reagensglas dekantiert, der Rückstand nochmals mit 2,0 ml Trichloressigsäure nachgewaschen und der Überstand nach dem Zentrifugieren mit dem ersten vereinigt. Der Rückstand wird nunmehr verworfen.

Die jetzt eiweißfreie Lösung wird mittels 1 n-Natronlauge gegen Phenolphthalein bis zum Rotumschlag alkalisiert (p_H 8,3).

Ausfällen von ADP-ATP. Der gewonnene Überstand wird mit 2,0 ml 25% Ba-Acetat versetzt und eine ½ Std stehen gelassen. Danach wird

10 min bei 3000 U/min zentrifugiert, der Überstand dekantiert und verworfen. Der Rückstand wird 2mal mit je 2,5 ml 2 n-Schwefelsäure versetzt, gut aufgerührt und bis zum vollständigen Absetzen des Niederschlages zentrifugiert. Beide Überstände werden in einem Reagensglas vereinigt. Dieses wird zugeschmolzen und 1 Std bei 100° C hydrolysiert.

Reduktion mittels Zinkstaub. Zu 5,0 ml Hydrolysat werden gleiche Mengen dest. Wasser und 5 n-Schwefelsäure gegeben und 100 mg Zinkstaub p.a. zugefügt. Die Reduktion erfolgt im Wasserbad bei 90° C über 30 min. Nach Abkühlen wird durch einen Wattebausch filtriert.

Diazotierung und Kopplung an das Bratton-Marshall-Reagens. 5,0 ml des Filtrates werden in ein Reagensglas pipettiert und 1,0 ml Na-Nitrit (0,1%) hinzugefügt. Nach Umschütteln 10 min stehen lassen. Dann wird 1,0 ml Aminosulfonsäure (0,5%) zupipettiert und das Ganze nach kräftigem Schütteln 2 min stehen gelassen.

Nun folgt die Zugabe von 1,0 ml Bratton-Marshall-Reagens (0,1%) und 2,0 ml dest. Wasser. Umschütteln.

5 min danach wird der Farbwert in einer 3 cm-Cuvette gegen einen Leerwert stufenphotometrisch oder elektrophotometrisch abgelesen.

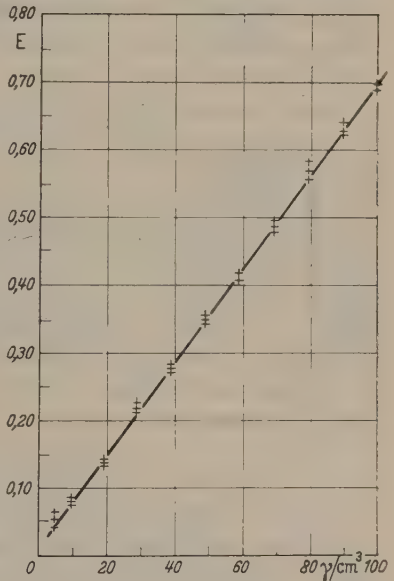


Abb. 2. Eichkurve

Herstellung des Leerwertes. 2 Teile dest. Wasser und 1 Teil 5n-Schwefelsäure werden gemischt. 100 mg Zinkstaub werden zugegeben. 30 min Reduktion. Weiterverarbeitung siehe oben.

Eichkurve. Sie wurde mittels eines von der Firma Hennig freundlicherweise zur Verfügung gestellten ATP-Präparates angefertigt. Nach unseren Erfahrungen, die sich auf Phosphatbestimmungen und ATP-Bestimmungen nach Parnas stützen, betrug der Reinheitsgrad des Präparates etwa 85%. Sobald absolut reine ATP vorliegt, können später die angegebenen Werte im Blut eine Korrektur dieser Größenordnung erfahren. Die jeweils mit 3 unabhängig voneinander angesetzten Lösungen angestellten Messungen ergaben die in Abb. 2 dargestellte Kurve.

Die Berechnung der ADP-ATP-Werte im Blut erfolgte unter Berücksichtigung der in den einzelnen Untersuchungsgängen eingetretenen Verdünnungen und des Eichfaktors, der sich aus der Eichkurve als 142,8

ermitteln läßt unter Zugrundelegung einer etwa 85% reinen ATP-Lösung als Vergleichssubstanz.

Modifikation zur Bestimmung der Serum-ADP-ATP. Das Serumeiweiß wurde mit 10 ml 5%iger Trichloressigsäure gefällt, der Niederschlag abzentrifugiert und das ausgefallene Eiweiß mit derselben Menge Trichloressigsäure nachgewaschen und abermals zentrifugiert. Beide Überstände wurden miteinander vereinigt und 2 Tropfen Phenolphthalein zugefügt. Die „Eiweißfraktion" wurde gesondert verarbeitet. Bis zur Rotfärbung wurde dann mit 1 n-Natronlauge neutralisiert, weiter mit Bariumacetat gefällt und wegen des besonders feinen Niederschlages ½ Std stehen gelassen. Anschließend wurde 30 min und in späteren Untersuchungen mit der gleichen Ausbeute 10 min zentrifugiert. Es wurde noch einmal wie oben gefällt, stehen gelassen und scharf abzentrifugiert.

Der Überstand wurde verworfen, der Niederschlag in 2,5 ml 2 n-Schwefelsäure gelöst. Die entstehende ATP geht in Lösung, während gleichzeitig unlösliches Bariumsulfat ausfällt. Durch Zentrifugieren wird eine saubere Trennung erreicht und der Bariumsulfatniederschlag mit 2,5 ml 2 n-Schwefelsäure nachgewaschen, abermals scharf zentrifugiert. Beide Überstände wurden vereinigt, der Niederschlag verworfen, anschließend wurde im zugeschmolzenen Reagensglas bei 100° C 1 Std hydrolysiert.

Kritik der Methode

1. Wie nahmen von 3 verschiedenen Versuchspersonen Blut und unterteilten es in je 5 Fraktionen. In jeder Fraktion wurde die ATP gesondert bestimmt. Bei exakt durchgeführter Methode ergab sich eine Fehlerbreite von 2%.

2. Die Frage, ob in stehengelassenem Blut unter unseren Bedingungen sich im Laufe der Zeit die ADP-ATP-Werte der verschiedenen Fraktionen verändern, wurde dahingehend beantwortet, daß während 1½ Std keine Veränderungen eintreten. Genaue Zeitmaßstäbe brauchen also bei den verschiedenen Schritten der Methode nicht eingehalten zu werden.

Ergebnisse

Untersuchungen an Normalpersonen

Wir führten zunächst Bestimmungen an 100 Normalpersonen durch, und zwar an je 50 Männern und Frauen. Hierbei fanden wir Werte, die im Mittel 52 mg-% betrugen und zwischen 31 und 81 mg-% streuten. Diese [—]-Werte ließen sich rechnerisch als signifikant bestimmen.

Eine Geschlechtsdifferenz fand sich nicht. Ferner zeigten sich keine signifikanten Zusammenhänge zwischen Hämoglobingehalt, Erythrocyten-, Leukocyten- und Reticulocytenzahl und der Höhe des ADP-ATP-Gehaltes des Gesamtblutes.

In einer weiteren Untersuchung führten wir eine getrennte Bestimmung in Erythrocyten und Plasma durch. Hierbei fanden sich im Serum im Mittel 2,2 mg-%. Der weitaus überwiegende Gehalt der Gesamt-ADP-ATP des Blutes ist demnach im Erythrocyten enthalten. Mehr als 80% der im Serum vorhandenen ATP liegen in wäßeriger Lösung vor. Ein kleiner mit der verwendeten Methode nicht exakt erfaßbarer Teil ist offenbar eiweißgebunden.

Untersuchungen am Blut Kranker

An 100 Kranken überprüften wir die Frage, ob es Krankheiten gibt, bei denen der ADP-ATP-Gehalt des Blutes von der Norm abweicht. Die in dieser Versuchsgruppe untersuchten Krankheiten sind in der Reihenfolge der Messungen in Tab. 1 aufgeführt. Einzelne Werte dieses Untersuchungsgutes lagen nicht mehr im Bereich der normalen Schwankungsbreite. Wurden dann weitere gleiche Krankheitsfälle analysiert, so zeigte sich, daß diese Streuwerte nicht charakteristisch für das betreffende Krankheitsbild waren.

Tabelle 1

Heuschnupfen	Cholelithiasis
Zustand nach Otitis media	Methämoglobinämie
Lebercirrhose	Myel. Leukämie
Cholangitis	Prim. chron. Polyarthritis
Metastasierendes Mamma-Ca	Cardiale Dekompensation
Verschlußikterus	Wabenlunge mit Amyloidose
Lymphosarkom	Prostata-Ca
Hepatitis epidemica	Bronchial-Ca
Subakute Leberatrophie	Ulcus duodeni
Lungen-Tbc	Cystopyelitis
Asthma bronchiale	Pleuritis exsudativa
Drüsen-Tbc	Dekompensierte Hypertonie
	Morbus Froehlich
	Diabetes mellitus

Diskussion

Neben der Ausarbeitung einer für klinische Routinebestimmungen geeigneten Methode war es das Ziel unserer Arbeit zu überprüfen, ob die ADP-ATP-Bestimmung wohl für klinische Zwecke von Bedeutung sein kann. Die diesbezüglichen Angaben sind in der Literatur widersprechender Natur.

Die Normalwerte aus der Literatur für ATP allein schwanken zwischen 6,2 und 27 mg-%. Die mit der beschriebenen Methode gewonnenen liegen etwas höher als die von Fleckenstein angegebenen Werte der Summe

von ADP + ATP. Bei Leberparenchymschäden fanden Albaum et al. etwas unter der Norm liegende Werte.

Lövgren[1,2] konnte dies jedoch nur für Lebercirrhosen bestätigen, während bei Fällen von Leber-Carcinomen und -Verfettungen normale bis übernormale Werte gemessen wurden. Bach bestimmte bei den verschiedensten Krankheitsbildern die ATP-Blutwerte. Er konnte dabei wohl ein Absinken bei der Mehrzahl der Fälle feststellen. Eine direkte Beziehung zur Schwere des Krankheitsbildes ließ sich aber nicht herstellen. Auch unsere Untersuchungen ergaben in dem von uns geprüften Krankheitsgut keine für eine bestimmte Erkrankung typische Veränderung des ADP-ATP-Gehaltes. Ein ungewöhnlich hoher Wert bei der Untersuchung gesunder Personen gab uns aber einen Anhalt dafür, wo evtl. die Bedeutung der Blut-ADP-ATP-Bestimmung liegen könnte. Bei der eingehenden Befragung dieser Versuchsperson stellte sich heraus, daß diese am Morgen des Untersuchungstages ein kolloidales Eisenpräparat i.v. erhalten hatte. Daraufhin durchgeführte Tierexperimente ergaben, daß diese Veränderung reproduzierbar ist, und zwar nicht nur durch kolloidales Eisen, sondern auch durch Tierkohle, Menschenserum, Aluminiumhydroxyd- und Celluloselösungen. Es handelt sich hierbei also um eine Wirkung von Kolloiden auf den ADP-ATP-Spiegel des Blutes. Wir werden diese Ergebnisse und ihre diagnostische Bedeutung in einer weiteren Arbeit zusammenfassend vorlegen.

Zusammenfassung

1. Es wird eine Methode beschrieben, nach der sich ADP und ATP colorimetrisch quantitativ erfassen lassen nach Zinkstaubreduktion und Diazotierung der reduzierten Adeninmolekel.

2. Im Blut gesunder Versuchspersonen finden sich im Mittel 52 mg-% ADP-ATP. Hiervon sind etwa 96% im Erythrocyten, der Rest im Serum enthalten.

3. Untersuchungen an einem größeren Krankengut (100 Fälle) ergeben keine spezifischen Abweichungen des ADP-ATP-Gehaltes von der Norm für die einzelnen Krankheitsbilder.

Literatur

Albaum, H. G., M. Ogur and A. Hirschfeld: Arch. of Biochem. **27**, 130 (1950).
Bach, H.: pers. Mitt., zit. nach Albaum, Ogur u. Hirschfeld.
Boettge, K., K. H. Jaeger u. H. Mittenzwei: Arzneimittel-Forsch. **7**, 24 (1957).
Bratton, A. C., and E. K. Marshall: J. of Biol. Chem. **128**, 537 (1939).
Flaschentraeger, B., u. E. Lehnartz: Physiol. Chemie, Lehr- und Handbuch II, 1a. Springer-Verlag 1954.
Lövgren, O.: (1) Ann. med. int. fenn. **42**, 42 (1953).
Lövgren, O.: (2) Acta haemat. (Basel) **12**, 35 (1954).
Woodhouse, D. L.: Arch. of Biochem. a. Biophysics **25**, 2 (1950).

Dr. J. Pirwitz, Freiburg im Breisgau, Silberbachstraße 27

Arch. exper. Path. u. Pharmakol., Bd. 232, S. 393—407 (1958)

Aus dem Physiologischen Institut der Universität Heidelberg

Elektrophysiologische Messungen zur Strophanthinwirkung am Herzmuskel*

Von
J. Dudel und W. Trautwein

Mit 7 Textabbildungen

(Eingegangen am 25. Juli 1957)

Einleitung

In Versuchen am Erythrocyten und am Skeletmuskel über die Ionenbewegungen durch die Zellmembran hat sich ergeben, daß die Digitalisglycoside und Strophanthin die Ionenflüsse von K und Na hemmen, wahrscheinlich indem sie Überträgerstellen blockieren (Schatzmann 1953, Schatzmann u. Witt 1954, Matchett u. Johnson 1954, Joyce u. Weatherall 1954, Glynn 1955, 1957, Kahn u. Acheson 1955, Harris u. Edwards 1955, Solomon et al. 1956). Es stellt sich nun die Frage, ob auch am Herzmuskel unter Strophanthin derartige Veränderungen der Membranpermeabilitäten eine Rolle spielen, und ob sich die Wirkungen des Strophanthins auf Aktionspotential und Kontraktion damit in Beziehung bringen lassen.

Die vorliegende Arbeit beschreibt zuerst in Versuchen am Papillarmuskel die am Aktionspotential und an der Kontraktion unter Strophanthin auftretenden Veränderungen. Im zweiten Teil wird am Purkinjefaden versucht, mit der Messung des Membranwiderstandes und der Steilheit des Aufstrichs des Aktionspotentials eine etwaige Hemmung der Ionenflüsse zu erfassen und sie mit der Strophanthinwirkung auf Aktionspotential und Kontraktion in Beziehung zu setzen.

Die Möglichkeit, elektrophysiologische Messungen mit direkten Bestimmungen der Ionenflüsse zu vergleichen, beruht auf folgenden Tatsachen der Theorie des Membranpotentials: In der Ruhe ist das Membranpotential im wesentlichen ein Kaliumpotential, E_K, es folgt bei Änderung der Kaliumaußenkonzentration (K_a) gut der Gleichung (Hodgkin u. Keynes 1955b, Jenerik 1953):

$$E_K = \frac{RT}{F} ln \frac{[K_i]}{[K_a]}, \tag{1}$$

die ein Membranpotential für passiven und unabhängigen Austausch von Ionen beschreibt. Wenn das Membranpotential E sich von E_K entfernt, müssen Ströme fließen:

$$\frac{\text{Kaliumeinstrom}}{\text{Kaliumausstrom}} = exp \frac{(E-E_K)\,F}{RT}. \tag{2}$$

* Ausgeführt mit Hilfe der Rockefeller Foundation und der Deutschen Forschungsgemeinschaft.

Es überwiegt also z. B. der Kaliumausfluß bei $E < E_K$. Nach Ergebnissen an Riesenaxonen (Hodgkin u. Keynes 1955b) bewegen sich die K-Ionen in der Membran nicht unabhängig, sondern hintereinander in „Poren", dies modifiziert Gl. (2) um einen Faktor $n > 1$ im Exponenten, es bleibt aber der Kaliumstrom M_K der Leitfähigkeit g_K proportional:

$$g_K = \frac{nF^2}{RT} M_K \cdot \tag{3}$$

Mit unseren Messungen des diastolischen Membranwiderstandes messen wir also g_K, und der Kaliumstrom M_K wird ihm umgekehrt proportional.

Veränderungen der Leitfähigkeit für Na-Ionen sind in der Ruhe mit unserer Methodik nicht zu erfassen. E_{Na} entsprechend Gl. (1) ist negativ ($[Na_i]/[Na_a] < 1$), nach Gl. (2) fließt beim Ruhepotential ein Natriumeinwärtsstrom, der durch aktiven Transport nach außen kompensiert wird. Dieser ist weitgehend unabhängig von der Spannung und wirkt sich so kaum auf die Membranleitfähigkeit aus (Hodgkin u. Keynes 1955a). Zu Beginn der Erregung aber steigt die Leitfähigkeit für Na plötzlich auf das Hundertfache (Weidmann 1951), der Na-Austausch wird weit überwiegend passiv und es gilt auch für Na z. B. Gl. (3). Mit der Messung des Membranwiderstandes während des Aufstrichs des Aktionspotentials könnte also der Na-Strom erfaßt werden. Dies ist aber bei der Steilheit des Aufstrichs schwierig und ungenau. Die Na-Leitfähigkeit zu Beginn der Erregung begrenzt nun, bei gleichem Ausgangspotential, die maximale Steilheit des Aufstrichs des Aktionspotentials (Frankenhaeuser u. Hodgkin 1955, Weidmann 1955a); es läßt sich also aus einer Veränderung der Beziehung zwischen Ruhepotential und maximaler Steilheit des Aufstrichs auf eine Veränderung des Na-Stroms schließen.

Methodik

Die Präparate, der Katzenpapillarmuskel und der Purkinjefaden des Hundes, wurden aus dem noch schlagenden Herzen excidiert und sofort in sauerstoffgesättigte Tyrodelösung gebracht. Die Zusammensetzung der Tyrodelösung war folgende (mMol): Na 153; K 2,7; Ca 1,8; Mg 1,05; Cl 145; HCO_3 13,5; H_2PO_4 2,4; Traubenzucker 5,2. Für die Versuche bei Kalciummangel wurde die Ca-Konzentration auf 0,9 mMol verringert, bei Strophanthingabe wurde der zirkulierenden Lösung im Vorratsgefäß (1 l) die entsprechende Menge Strophanthin-K-Boehringer zugesetzt. Es wurden z. T. sehr hohe Strophanthinkonzentrationen gewählt, bis zu $5 \cdot 10^{-6}$, um bei den schwierigen Versuchen mit 2 Kapillaren die Vergiftung schnell ablaufen zu lassen. Die Lösung war sauerstoffgesättigt, ihr p_H lag zwischen 7,2 und 7,4, ihre Temperatur war 37° C.

Die Anordnung des Präparates in der Meßkammer war wie in einer früheren Arbeit (s. Abb. 1, Dudel u. Trautwein 1954). Die Ruhe- und Aktionspotentiale wurden mit intracellulären Kapillar-Elektroden abgeleitet (nähere Angaben s. Dudel u. Trautwein 1954), durch eine zweite intracelluläre Elektrode im Abstand von 5—50 μ konnten in den Versuchen am Purkinjefaden von einem Grass-Stimulator rechteckige Stromstöße gegeben und damit elektrotonische Potentiale auf das Membranpotential gesetzt werden. Die Höhe der Stromstöße, um 10^{-7} Amp., wurde über einen Widerstand von 10 K Ω in der Erdleitung der Badelösung gemessen. Die Kontraktionen wurden isometrisch mit einem Kondensatormyographen gemessen (s. Trautwein u. Dudel 1954).

Zu den an Aktionspotential und Kontraktion ausgewerteten Größen s. Abb. 2 einer früheren Arbeit (Dudel u. Trautwein 1954).

Ergebnisse

A. Versuche am Papillarmuskel

Zur Testung der Wirkung von Strophanthin sollte der Muskel „vorgeschädigt" sein; die Hypodynamie wird seit Loewi, 1921 häufig durch Ca-Mangel ausgelöst. Wird die Ca-Konzentration auf die Hälfte herabgesetzt, so nimmt in Abb. 1 B und Abb. 2, min 75—102 die Kontraktionskraft schnell um etwa $\frac{1}{3}$ ab (s. auch Daly et al. 1921, Niedergerke 1956 a), das Aktionspotential verlängert sich gleichzeitig, seine Amplitude bleibt unverändert (s. Hoffman u. Suckling 1956). Diese Verlängerung des Aktionspotentials tritt bei Spontanfrequenz nicht ein (Weidmann 1955 b), weil sich die Frequenz im Ca-Mangel erhöht, Trautwein u. Witt (1952) fanden aus diesem Grunde sogar eine Verkürzung des Aktionspotentials.

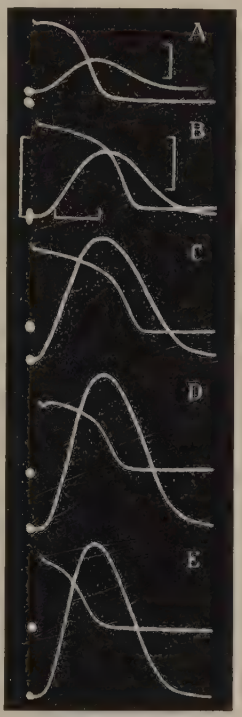


Abb. 1. Originaloszillogramme von Aktionspotential und Kontraktion des Katzenpapillarmuskels, gleicher Versuch wie Abb. 2. A normal, B im Ca-Mangel (min 83 in Abb. 2), C-E unter Strophanthin min 110, 121 u. 131 in Abb. 2). Ordinateneichung in B, links, von oben 0 bis unten 100 mV, gilt für A-E. Ordinateneichung in A und B, rechts, 1 g, B gilt für B-E. Zeiteichung in B 100 msec

In Abb. 3 wurde die Hypodynamie durch „Ermüdung" erreicht. Wir werden sehen, daß diese Änderung der Ausgangsbedingung die Strophanthinwirkung nicht wesentlich beeinflußt. Es wurde ein Muskel verwendet, der zuvor in einem 4stündigen Versuch durch Sauerstoffmangel und hohe Schlagfrequenz stark beansprucht wurde, trotz mehr als einstündiger Erholungszeit erreichte er nur die Hälfte der Kontraktionskraft bei Versuchsbeginn, war also stark „ermüdet".

Die Wirkung des Strophanthin auf das Aktions- und Ruhepotential. Zu Beginn der Strophanthinwirkung in Abb. 1 C, Abb. 2, min 110 und Abb. 3, min 275 scheint die Größe des Aktionspotentials nicht verändert, dabei verlängern sich Plateau- und Aktionspotentialdauer um etwa 5%. Danach beginnt das Aktionspotential in beiden gezeigten Versuchen etwas abzunehmen, gleichzeitig fällt auf, daß die Plateau- und Aktionspotentialdauer sich verkürzen, der zunehmende Plateauverlust (Schellong 1931) ist in Abb. 1 D und E gut sichtbar. Während dieses Zustandes des Präparates wurden häufig gekuppelte Extrasystolen beobachtet, gekuppelt, denn sie treten nur bei gereiztem Präparat auf. In einem

Kontrollversuch, der im wesentlichen wie der in Abb. 1 und 2 abläuft, sind auch die Ruhepotentiale gemessen worden. Diese liegen unverändert bei etwa 80 mV, bis auch die Amplitude des Aktionspotentials

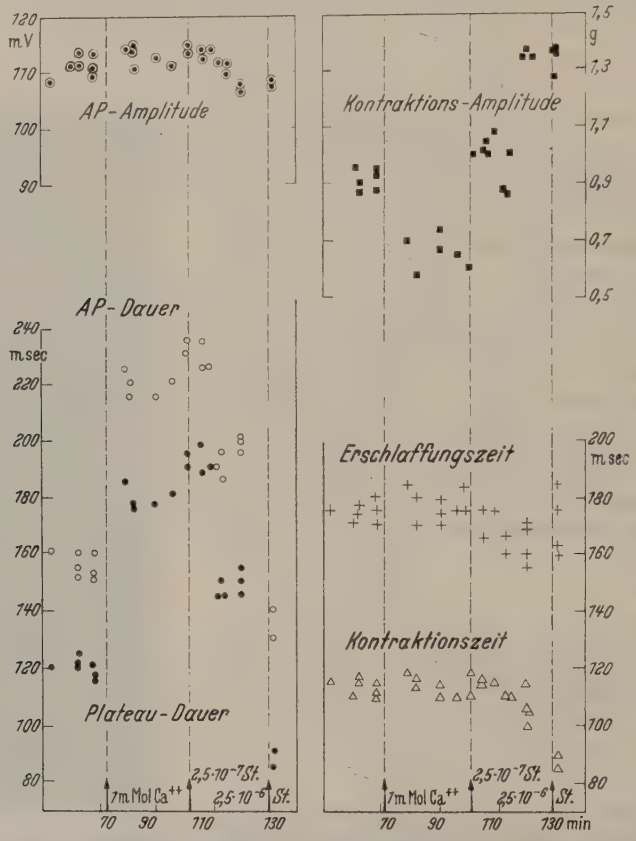


Abb. 2. Verlauf der Strophanthin-Vergiftung des Papillarmuskels im Ca-Mangel, gleicher Versuch wie Abb. 1. In min 70 wurde die Ca-Konzentration auf 1 mMol erniedrigt, in min 102 Strophanthin $2{,}5 \cdot 10^{-7}$, in min 130 Strophanthin $2{,}5 \cdot 10^{-6}$ gegeben. Links Auswertung des Aktionspotentials, rechts der Kontraktion. Für die Zeitwerte links u. rechts gleiche Ordinate

abnimmt, in einem Zustand vergleichbar etwa Abb. 1 E hat das Ruhepotential auf knapp 70 mV abgenommen.

Die Wirkung des Strophanthin auf die Kontraktion. Die Kontraktionskraft nimmt unter Strophanthin in Abb. 1—3 sehr schnell zu und steigt während der ganzen Dauer der Versuche. Die Kontraktions- und Erschlaffungszeit sind weit weniger beeinflußt, sie nehmen in der Spätphase der Vergiftung etwas ab. Während sich also das Aktionspotential zuerst verlängert und dann verkürzt, vergrößert sich einsinnig die Kontraktion; es ist deutlich, daß Veränderungen des zeitlichen

Ablaufs des Aktionspotentials nicht als unmittelbare Ursache für die Inotropie in Frage kommen.

Es wäre denkbar, daß zwischen der Steigerung der Kontraktionskraft durch Strophanthin und der bei Erhöhung der Schlagfrequenz

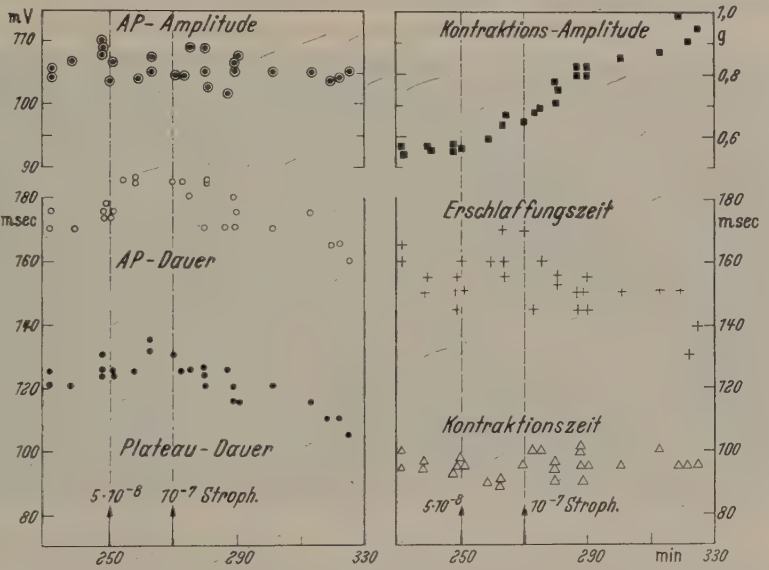


Abb. 3. Verlauf der Strophanthinvergiftung des ermüdeten Papillarmuskels. In min 250 wurde Strophanthin $5 \cdot 10^{-8}$, in min 270 Strophanthin 10^{-7} gegeben. Sonst wie Abb. 2

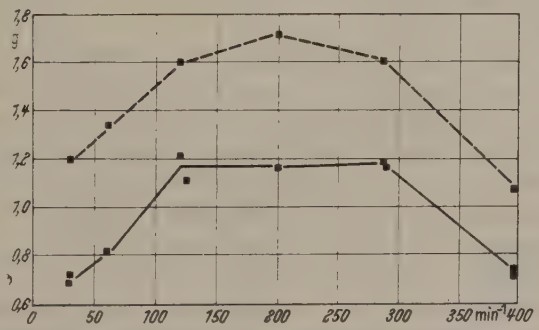


Abb. 4. Die Kontraktion des Papillarmuskels bei verschiedenen erzwungenen Schlagfrequenzen: „Treppenphänomen". Gleicher Versuch wie Abb. 1 und 2. Untere Kurve im Ca-Mangel in min 91 (s. Abb. 2), obere Kurve unter Strophanthin in min 121 (s. Abb. 2)

(Treppe), (Trautwein u. Dudel 1954) ein Zusammenhang bestände. So haben Hajdu u. Scent-Györgyi (1952) am Froschherzen eine Aufhebung der „Treppe" durch Digitalis gefunden. Es wurde danach angenommen (Scent-Györgyi, 1953), daß die Strophanthinwirkung darin bestehe, daß das sonst nur durch Frequenzsteigerung erreichbare

Optimum der Kontraktion durch Strophanthin bei allen Frequenzen schon erreicht ist. Zur Prüfung dieser Hypothese haben wir im Ca-Mangel und unter Strophanthin, in Minute 91 und 121 des Versuchs der Abb. 1 und 2, kurzfristige Frequenzsteigerungen vorgenommen. Dabei tritt, bei entsprechend verschiedener Ausgangsamplitude der Kontraktion, ein völlig gleichwertiges Treppenphänomen auf, wie Abb. 4 für die Kontraktionskraft zeigt. Es scheint uns also die oben angegebene Hypothese nicht allgemein zu gelten.

B. Versuche am Purkinjefaden

Wirkung des Strophanthin auf das Aktionspotential. Für die weiteren Versuche wurde der Purkinjefaden gewählt, weil er für den konstanten Einstich mit 2 Capillaren in dieselbe Zelle weit besser geeignet ist: 1. sind seine Fasern viel dicker als die des Papillarmuskels und weniger verzweigt, 2. kontrahiert er sich nur sehr schwach. Die Strophanthinvergiftung verläuft nun am Purkinjefaden etwas verschieden vom Papillarmuskel, es soll deshalb zunächst der Verlauf eines solchen Versuches beschrieben werden.

Abb. 5 zeigt Ausschnitte aus einem Versuch, bei dem zur Widerstandsmessung auf das Membranpotential durch eine zweite intrazelluläre Capillare alle 100 msec ein anodischer elektrotonischer Impuls von 50 msec Dauer gesetzt wurde. Abb. 5 A zeigt das Präparat im Ca-Mangel. Dadurch ist seine Erregbarkeit erhöht (Weidmann 1955b) und es treten während der Repolarisation Extrasystolen auf, es handelt sich dabei um Anodenöffnungszuckungen, das Präparat wird, nach den hohen anodischen Impulsen von 19 mV, in der „dip"-Phase gegen Ende der Repolarisation erregt (Brooks et al. 1956). Nach 3 min Strophanthin $5 \cdot 10^{-6}$ in Abb. 5 B vermehren sich diese Extrasystolen (Coraboeuf et al., 1953) zu langen Reihen (bis zu 12), bis endlich eine vollständige Repolarisation eintritt, dabei scheint die Repolarisation des ersten Aktionspotentials, verglichen mit Abb. 5 A, verlangsamt. Die Höhe des Aktionspotentials hat abgenommen, von 92 mV in Abb. 5 A auf 65 mV, während das Ruhepotential kaum verändert bei etwa 80 mV liegt. Eine Minute später haben sich in Abb. 5 C die Effekte verstärkt, die Extrasystolen sind häufiger und unregelmäßiger geworden und das Aktionspotential hat sich auf 58 mV verkleinert. Es wurde jetzt der Elektrotonus abgeschaltet, um seine „Reizwirkung" zu vermeiden. Es stellt sich eine langsamere Frequenz ein, das Aktionspotential wird ausgelöst von langsamen diastolischen Depolarisationen, den hier etwa 10 mV großen Schrittmacherpotentialen, es entsteht also örtlich und wird kaum noch geleitet. Die Aufstriche der Aktionspotentiale sind sehr träge: Zuerst geht es ein kurzes Stück mit 1—2 V/sec, dann noch langsamer mit 0,2 Volt/sec, das ganze Aktionspotential ist nur

noch 30—35 mV groß bei 67 mV Ruhepotential. Das Ruhepotential ist damit viel geringer als bei dem davor liegenden geleiteten Aktionspotential, es hat sich etwa auf die Höhe eingestellt, auf der sich vorher die Extrasystolen auslösten. Nach 4,5 min Strophanthin in Abb. 5 D zeigt sich auch bei aufgesetztem Elektrotonus nur ein „Schaukelpotential"

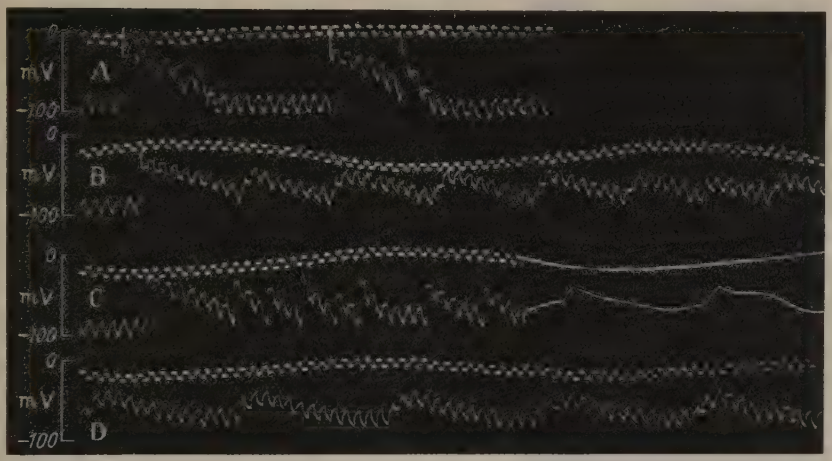


Abb. 5. Aktionspotential des spontan schlagenden Purkinjefadens mit aufgesetzten anodischen elektrotonischen Potentialen. Kurve darüber die rechteckigen Stromstöße. 10/sec, 50 msec Dauer (die Kurve schwankt etwas: Verstärkerdrift bei sehr hoher Verstärkung). A im Ca-Mangel (1 mMol Ca), B nach 3 min, C nach 4 min Strophanthin $5 \cdot 10^{-8}$. (Im zweiten Teil wurden die Stromstöße abgeschaltet). D nach 4,5 min Strophanthin $5 \cdot 10^{-8}$. A—D gleicher Einstich. Potentialeichung gilt für das Aktionspotential, Strom in A $1{,}8 \cdot 10^{-7}$ Amp

wie in Abb. 5 C. Am Ende bleibt das Präparat bei einem Membranpotential von etwa 40 mV stehen.

Die in einem Vergiftungsstadium wie Abb. 5 C und D verringerten Ruhepotentiale könnten als solche schon eine Reduktion des Aktionspotentials hervorrufen (s. Einleitung). Daß dies nicht die entscheidende Ursache sein kann, zeigt ein anderer Versuch: In einem gegen Abb. 5 D noch etwas fortgeschritteneren Vergiftungsstadium haben wir das Ruhepotential durch Strom von 44 mV auf 78 mV erhöht, das Aktionspotential nahm dabei, trotz praktisch normalisiertem Ruhepotential, nur von 10 mV auf 31 mV zu.

Die Hauptwirkung des Strophanthin auf den Purkinjefaden ist also die auf die Erregungsbildung und -leitung, der am Papillarmuskel so hervortretende Plateauverlust ist nicht zu beobachten.

Die Änderung des Membranwiderstandes unter Strophanthin. Setzt man wie in Abb. 5 elektrotonische Impulse auf das Membranpotential, so sind ihre Amplituden proportional dem zugeführten Stromstoß, bei gleichem Strom ist, bei sehr kleinem Capillarabstand, das Quadrat des

elektrotonischen Potentials etwa proportional dem Membranwiderstand (Weidmann 1952).

Es lassen sich also aus Abb. 5 die Veränderungen des Membranwiderstandes ablesen. In Abb. 5 B hat sich der Strom verkleinert, der elektrotonische Impuls ist jedoch gleich groß wie in Abb. 5 A geblieben, folglich hat sich also der Membranwiderstand erhöht: etwa auf 150% des Ausgangswertes. Er steigt weiter in Abb. 5 C und D, in Abb. 5 D erreicht er etwa 200% des Wertes von 5 A.

Abb. 6. Purkinjefaden, Abfall des elektrotonischen Potentials. Kurve darunter der durch die 2. Capillare gegebene Strom. Das diastolische Membranpotential, die „Grundlinie" für den Elektrotonus, ist gestrichelt eingezeichnet. A Kontrollbild, B nach 5 min Strophanthin $5 \cdot 10^{-6}$, C nach 17 min Strophanthin $5 \cdot 10^{-6}$. Die Eichungen in A gelten für A—C

Die Änderung des Membranwiderstandes läßt sich unter unseren Bedingungen genauer und sicherer als aus der Höhe des Elektrotonus aus der Zeitkonstante τ seines expontentiellen Anstieges und Abfalls bestimmen. Man kann annehmen, daß die Membrankapazität als im wesentlichen geometrische Größe konstant bleibt (Weidmann 1952), dann ist τ bei kleinem Capillarabstand dem Membranwiderstand proportional. Abb. 6 zeigt den Abfall des elektrotonischen Potentials bei schneller Zeitschreibung, der Stromstoß wurde in die Diastole nach einem durch Reiz ausgelösten Aktionspotential gesetzt. Nach 5 min Strophanthinwirkung in Abb. 6 B flacht sich der Abfall des Elektrotonus ab, τ wächst von 14 auf 22 msec. Die Zeitkonstante läßt sich nun in der weiteren Vergiftung, bei „Schaukelpotentialen", nicht mehr auswerten, weil keine diastolische gerade Grundlinie mehr gegeben ist. Nach 17 min aber steht das Präparat, unerregbar in extremer Vergiftung; schon unmittelbar nach Stillstand hat τ stark abgenommen, auf 8 msec. Der Membranwiderstand hat sich also in Abb. 6 B auf 160% von 6 A erhöht, und in Abb. 6 C auf 60% erniedrigt. Die Höhen des Elektrotonus geben übrigens in 6 B 150%, in 6 C 75% des Membranwiderstandes von 6 A. Tab. 1 zeigt, daß weitere Versuche gleichartige Ergebnisse hatten: Verlängerung der Zeitkonstante bis auf das Doppelte bei mittlerer Strophanthinvergiftung, bei stillstehendem Präparat Abfall von τ bis auf die Hälfte des Ausgangswertes.

Tabelle 1

Versuch	Minuten nach Strophanthin-gabe $2{,}5 \cdot 10^{-6}$	Zustand	τ [msec]
1/1	0	normal	27
	0	normal	26
	0	normal	26
	0	normal	25
	3,5	Frequenz hoch	33
	4	Frequenz hoch	37
	5	Frequenz hoch	37
	5,5	Frequenz hoch	30
	5,5	Frequenz hoch	30
	14	unerregbar	16
	14	unerregbar	16
1/2	0	normal	39
	0	normal	33
	0	normal	42
	3	Frequenz hoch	65
	4	Frequenz hoch	73
2/1	0	normal	8
	0	normal	10
	2	Frequenz hoch	19
	2	Frequenz hoch	21
	3	Frequenz hoch	17
3/1	0	normal	14
	0	normal	13
	0	normal	12
	0	normal	13
	0	normal	12
	2	Frequenz hoch	18
	3	Frequenz hoch	17
	5	Frequenz hoch	24
	5	Frequenz hoch	22
	17	unerregbar	8
	17	unerregbar	9
	18	unerregbar	7
3/2	0	normal	17
	0	normal	17
	0	normal	16
	2	Frequenz hoch	27
	3	Frequenz hoch	28
	17	unerregbar	13
	17	unerregbar	12

In der ersten Phase der Strophanthinvergiftung am Purkinjefaden steigt also der Membranwiderstand auf etwa das Doppelte, das bedeutet, nach dem in der Einleitung gezeigten, eine Hemmung des K-Flusses auf

etwa die Hälfte. Diese Befunde stimmen gut mit denen von Joyce u. Weatherall, 1954 am Skeletmuskel und von Glynn 1955, 1957 am Erythrocyten überein. Der Abfall des Membranwiderstandes auf etwa die Hälfte bei schließlich stehendem Purkinjefaden muß als Erhöhung des K-Flusses angesprochen werden. Beim Purkinjefaden gehört dies zum Bild der extremen Vergiftung, vielleicht wird der erhöhte K-Fluß allein schon von dem niedrigen Ruhepotential von 35—40 mV verursacht, nach Gl. (2) erhöht sich der K-Strom bei kleinem Potential E. Die Bedeutung dieses Befundes für den Plateauverlust des Papillarmuskels soll später diskutiert werden.

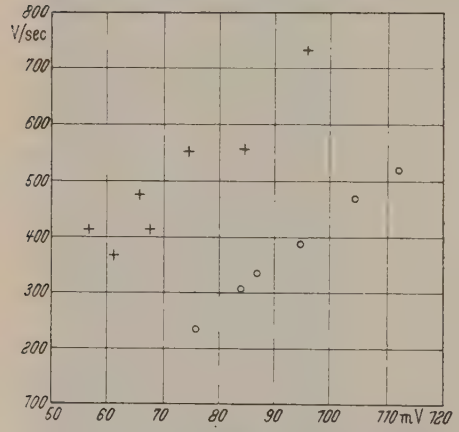


Abb. 7. Die maximale Steilheit des Aktionspotentials in Abhängigkeit vom durch Stromfluß erzwungenen Ruhepotential, Purkinjefaden. Obere Kurve (+) Kontrolle, untere Kurve (o) nach 8 min Strophanthin 10^{-6}. Nähere Erklärung im Text

Die Steilheit des Aufstrichs des Aktionspotentials unter Strophanthin. Wie in der Einleitung gezeigt wurde, erlaubt die Bestimmung der Veränderung der Steilheit des Aktionspotentials, bei gleichem Ruhepotential verglichen, eine Aussage über das Verhalten der Na-Ionenflüsse. Es wurde dazu die Membran mit anodischem Gleichstrom durch die zweite Capillare polarisiert, so daß die maximale Steilheit des Aufstrichs des Aktionspotentials bei verschiedenen erzwungenen Ruhepotentialen gemessen werden konnte. In Abb. 7 sind die Werte nach 8 min Strophanthin deutlich nach rechts verschoben, die Steilheit des Aktionspotentials ist also hier, verglichen bei gleichem Ruhepotential, etwa auf die Hälfte abgeflacht. Im Versuch der Abb. 7 wurde die Strophanthinkonzentration kleiner gewählt, nach 8 min dürfte, nach der Höhe des Aktionspotentials zu urteilen, der Vergiftungszustand noch immer zwischen dem in Abb. 6 A und B liegen, der Effekt nimmt bei weiterer Vergiftung zu.

Dies wird deutlich bei den trägen Aufstrichen der Abb. 5 C und D; die maximale Steilheit ist hier schon bei der langsamen Zeitschreibung erkennbar und liegt in der Größenordnung 1 V/sec, ist also bei einem Ruhepotential von 67 mV mindestens 100-fach zu klein. In die gleiche Richtung weist die an der Höhe des Elektrotonus in Abb. 5 D nur wenig sichtbare Verringerung des Membranwiderstandes während des trägen Aufstriches des Aktionspotentials, der zu Beginn der Erregung normal eintretende Abfall des Membranwiderstandes während des

Na-Einstroms auf etwa 1% (Weidmann 1951) scheint zum großen Teil auszubleiben.

Das Ergebnis von Abb. 7 kann als Hemmung des Na-Flusses auf etwa die Hälfte interpretiert werden. Dies stimmt nun wieder auch in der Größenordnung mit den Befunden von Glynn 1955, 1957 und Solomon, 1956 überein. Im weiteren Verlauf der Vergiftung scheint diese Hemmung des Na-Stromes nach Abb. 5 noch sehr zuzunehmen.

Diskussion

Nach dem in den Ergebnissen beschriebenen ergibt sich für die erste Phase der Strophanthinvergiftung am Purkinjefaden eine Hemmung der K- und Na-Ionenflüsse, wie es aus der Literatur zu erwarten war. Die mit unserer Methodik erfaßbaren Veränderungen der Ionenflüsse setzen nach Gl. (3) passive Austauschvorgänge voraus, die gefundene Hemmung bedeutet also eine Hemmung von passiven Ionenflüssen durch Strophanthin. Es dürften deshalb z. B. im kinetischen Modell der Strophanthinwirkung bei Solomon et al. (1956) die passiven Flüsse unseres Erachtens nicht konstant gehalten werden.

Die Hemmung des K-Ionenflusses kann auch zur Erklärung der Verlängerung des Aktionspotentials in der 1. Phase der Strophanthinwirkung (s. auch Ruskin u. Decherd 1948) am Papillarmuskel und am Purkinjefaden herangezogen werden. Die Repolarisation kommt nämlich durch einen K-Ausstrom zustande (Weidmann 1951, Wilde 1955), eine Verringerung der K-Leitfähigkeit muß sie verlangsamen. Entsprechend wird vor allem die Hemmung des Na-Ionenflusses für die von den Digitaloiden bekannte Verlangsamung der Spontanfrequenz und der Erregungsleitung verantwortlich sein.

Schwieriger ist der lange bekannte (Schellong 1931) spätere Plateauverlust des Papillarmuskels zu erklären. Für ihn wäre eine Erhöhung der K-Leitfähigkeit zu fordern. Nun nimmt am Purkinjefaden im Endzustand der Vergiftung die K-Leitfähigkeit wieder kräftig zu, dabei ist aber das Ruhepotential sehr klein, 35 mV in Abb. 6C, und es fällt schwer, diesen Befund für den am Papillarmuskel doch relativ früh auftretenden Plateauverlust heranzuziehen. Es scheint aber, wie unten diskutiert werden wird, die Strophanthinintoxikation am Purkinjefaden besonders früh und stark an der „Erregung" anzugreifen, so daß sich vielleicht am Papillarmuskel eine Zunahme der K-Leitfähigkeit und ein Plateauverlust entwickeln können, ehe noch die Höhe des Aktions- und Ruhepotentials stärkter reduziert ist.

Am Purkinjefaden treten in der Strophanthinvergiftung in Abb. 5 C und D eigenartige „Schaukelpotentiale" auf. Sie entstanden dadurch, daß ein von normalem Ruhepotential gestarteter Impuls nach einer Serie von aufgesetzten Extrasystolen schließlich nicht mehr repolarisierte,

sondern es entwickelten sich, ausgehend etwa von der Höhe der vorangehenden Extrasystolenbildung, kleine Impulse mit hohem Schrittmacherpotential und trägem Aufstrich. Die K- und Na-Leitfähigkeiten sind niedrig, doch scheint im Verhältnis zur Widerstandszunahme für K die Steilheit des Aufstrichs der Impulse von der verringerten Na-Leitfähigkeit außerordentlich stark betroffen. Der Na-Einstrom in die Faser ist so gering, daß er mit seinem maximalen Wert das Potential nur wenige mV steil depolarisieren kann, dann setzt mit der von Hodgkin u. Huxley 1952 und Weidmann 1955a untersuchten Inaktivation des Na übertragenden Systems ein noch trägerer Anstieg ein, es scheint, als ob die unzureichende Steigerung der Na-Permeabilität in der Erregung die Aktionspotentiale nicht mehr größer als 40 mV werden ließe. Das Aktionspotential des Purkinjefadens reagiert also sehr empfindlich auf Verkleinerung des Na-Einstroms in der Erregung, diese Tatsache macht sich ebenfalls bemerkbar, wenn man die Na-Außenkonzentration auf die Hälfte herabsetzt: wir fanden dabei am Purkinjefaden ebenfalls nur sehr kleine, träge Aktionspotentiale, während das Aktionspotential des Papillarmuskels sich nicht grob änderte (unveröffentlicht). Für diese Empfindlichkeit des Purkinjefadens ist uns keine Ursache bekannt, vielleicht ist die Koordination zwischen Aktivierung und Inaktivierung des Na-übertragenden Systems sehr kritisch eingestellt.

Auffallend sind in Abb. 5 weiter die hohen Schrittmacherpotentiale. Für diese ist ebenso eine letzte Ursache nicht bekannt, man findet sie immer, wenn das Ruhepotential erniedrigt ist, z. B. auch im Sauerstoffmangel (s. Abb. 11 u. 12, Trautwein et al. 1954).

Eine Erklärung des Inotropieeffektes des Strophanthin aus seiner Wirkung auf die Membranpermeabilität und den Folgen für das Aktionspotential scheint uns im Sinne eines ursächlichen Zusammenhanges nicht möglich. Es wäre schwer zu verstehen, wie das am Papillarmuskel zuerst sich verlängernde und dann verkürzende Aktionspotential den gleichen Effekt einer Kontraktionssteigerung haben sollte. Die andere Möglichkeit einer Einwirkung, die Verringerung der intracellulären Na- und K-Konzentrationen durch die herabgesetzten Permeabilitäten und den gehemmten aktiven Na-Transport, scheint nach den Befunden von Reiter (1956) ebenfalls ausgeschlossen, die intracellulären Konzentrationen ändern sich nicht wesentlich. Moulin u. Willbrandt 1955 und Niedergerke et al. 1956, 1957 a u. b nehmen an, daß die intracelluläre Ca-Konzentration einen entscheidenden Einfluß auf die Höhe der Kontraktion hat. Es ist wahrscheinlich, daß der Treppeneffekt durch Ca-Einstrom zustandekommt (Moulin u. Willbrandt 1955, Niedergerke 1956, und Niedergerke u. Lüttgau 1957), und daß die Ursache dieser Wirkung eine Kompetition des Ca mit Na an einer die Höhe der Kontraktion kontrollierenden „Stelle" in der Membran ist (Niedergerke

u. Harris, 1957). Unsere Befunde über die Treppe (s. Abb. 4) sprechen zwar gegen die Meinung von Hajdu u. Scent-Györgyi, 1952 und Scent-Györgyi, 1953, das Strophanthin wirke durch Vorwegnahme des Treppeneffektes, man könnte aber den gleichen Angriffspunkt für Strophanthin und Ca bei der Treppe annehmen, extreme Strophanthinvergiftung hebt ja am Froschherzen die Treppe schließlich auf (Hajdu u. Scent-Györgyi, 1952). Weiter kommen Glynn, 1955, 1957 und Solomon et al., 1956 zu der Annahme, daß die Hemmung der Flüsse von Na und K unter Strophanthin durch Kompetition von Strophanthin mit diesen Ionen an einer „Überträgerstelle" in der Membran zustande kommt. Andererseits soll, wie oben erwähnt, die Erhöhung der Kontraktion durch Ca auf Wettbewerb mit Na beruhen. Da nun anscheinend sowohl Ca wie auch Strophanthin an aktiven „Stellen" der Membran mit Na und K in Wettbewerb treten können, liegt es wieder nahe, für die inotrope Wirkung von Ca und Strophanthin den gleichen Angriffspunkt anzunehmen.

Summary

1. The action potential of the papillary muscle is prolonged in the first minutes of Strophanthin application, later it is shortened: 'plateau loss'. The force of contraction increases throughout the experiment.

2. The Strophanthin intoxication of the Purkinje fibre is characterized by the appearance of extrasystoles and a higher rate of slow diastolic depolarisations.

3. The membrane resistance increases (up to 200%) with Strophanthin, but in extreme intoxication it is reduced.

4. In the presence of Strophanthin the rate of rise of the action potential is reduced.

5. The results of 3. and 4. suggest, that Strophanthin reduces the potassium and sodium permeability of the cardiac muscle fibre. This agrees with direct measurements on erythrocytes and sceletal muscle fibres.

Literatur

Brooks, C. McC., P. F. Cranefield, B. F. Hoffman and A. A. Siebens: Anodal effects during refractory period of cardiac muscle. J. Cellul. a. Comp. Physiol. **48**, 237—241 (1956).

Coraboeuf, E., C. de Lozè et J. Boistel: Action de la digitale sur les potentiels de membrane et d'action du tissu conducteur du coeur de chien, étudiée à l'aide de microélectrodes intracellulaires. C. r. Soc. Biol. (Paris) **147**, 1169 (1953).

Daly, I., de Burgh and A. J. Clark: The action of ions on the frog heart. J. of Physiol. **54**, 367—383 (1921).

Dudel, J., u. W. Trautwein: Das Aktionspotential und Mechanogramm des Herzmuskels unter dem Einfluß der Dehnung. Cardiologia (Basel) **25**, 344—362 (1954).

Frankenhaeuser, B., and A. L. Hodgkin: The effect of calcium on the sodium permeability of a giant nerve fibre. J. of Physiol. **128**, 40—41 P (1955).

Glynn, I. M.: Action of cardiac glycosides on red. cells. J. of Physiol. **128**, 56—57 P (1955).

Glynn, I. M.: The action of cardiac glycosides on sodium and potassium movements in human red cells. J. of Physiol. **136**, 148—173 (1957).

Hajdu, S., and A. Scent-Györgyi: Action of digitalis glycosides on isolated frog heart. Amer. J. Physiol. **168**, 171 (1952).

Harris, E. J., and G. Edwards (1955, unpublished). Zitiert nach Harris, E. J.: Transport and accumulation in biological systems. Butterworth's Scientific Publications: London 1956.

Hodgkin, A. L., and A. F. Huxley: The dual effect of membrane potential on sodium conductance in the giant axon of Loligo. J. of Physiol. **116**, 497—506 (1952).

Hodgkin, A. L., and R. D. Keynes: Active transport of cations in giant axons from Sepia and Loligo. J. of Physiol. **128**, 28—60 (1955a).

Hodgkin, A. L., and R. D. Keynes: The potassium permeability of a giant nerve fibre. J. of Physiol. **128**, 61—88 (1955b).

Hoffman, B. F., E. Bindler and E. E. Suckling: Postextrasystolic potentiation of contraction in cardiac muscle. Amer. J. Physiol. **185**, 95—102 (1956).

Jenerick, H. P.: Muscle membrane potential, resistance and external potassium chloride. J. Cellul. a. Comp. Physiol. **42**, 427—448 (1953).

Joyce, C. R. B., and M. Weatherall: Cardiac glycosides and the potassium exchange of human erythrocytes. J. of Physiol. **127**, 33 P (1954).

Kahn, J. B., and G. M. Acheson: Effects of cardiac glycosides and other lactones, and of certain other compounds, on cation transfer in human erythrocytes. J. of Pharmacol. **115**, 305—318 (1955).

Loewi, O.: Über den Zusammenhang zwischen Digitalis- und Calciumwirkung. Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **82**, 131—158 (1918).

Matchett, P. A., and J. A. Johnson: Inhibition of sodium and potassium transport in frog sartorii in the precence of Ouabain. Federat. Proc. **13**, 384 (1954).

Moulin, M., and W. Wilbrandt: Die Wirkung von Kalium und Kalcium auf das Treppenphänomen am Froschherzen. Experientia (Basel) **11**, 72—73 (1955).

Niedergerke, R.: The 'straircase' phenomenon and the action of calcium on the heart. J. of Physiol. **134**, 569—583 (1956).

Niedergerke, R., and E. J. Harris: Calcium and the contraction of the heart. Accumulation of calcium (or strontium) under conditions of increasing contractility. Nature (Lond.) **179**, 1066—1069 (1957).

Niedergerke, R., and H. Lüttgau: Calcium and the contraction of the heart. Antagonism between calcium and sodium ions. Nature (Lond.) **179**, 1066—1069 (1957).

Reiter, M.: Wirkung von Frequenz, Natriumentzug und Strophanthin auf Kontraktionskraft und Alkaligehalt des Herzmuskels. Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **227**, 305—315 (1956).

Ruskin, A., and G. Decherd: Effect of Strophanthin and Quinidine upon conduction and electrical systole (Q-T-Interval) of the rabbit heart. Proc. Soc. Exper. Biol. a. Med. **68**, 463—475 (1948).

Scent-Györgyi, A.: Chemical physiology of contraction in body and heart muscle. New York: Academical Press. 1953.

Schatzmann, H. J.: Herzglycoside als Hemmstoffe für den aktiven Kalium- und Natriumtransport durch die Erythrocytenmembran. Helvet. physiol. Acta **11**, 346—354 (1953).

Schatzmann, H. J., and P. N. Witt: Action of K-Strophanthin on potassium leakage from frog sartorius muscle. J. Pharmacol. a. Exper. Ther. **112**, 501—508 (1954).

Schellong, F.: Der Einfluß des Digitalis auf die Erregbarkeit des Herzmuskels, den Erregungsvorgang und seine Fortpflanzung. IX. Mitteilung. Z. exper. Med. **75**, 767—782 (1931).

Solomon, A. K., T. J. Gill and G. L. Gold: The kinetics of cardiac glycoside inhibition of potassium transport in human erythrocytes. J. Gen. Physiol. **40**, 327—350 (1956).

Trautwein, W., u. J. Dudel: Aktionspotential und Mechanogramm des Warmblüterherzmuskels als Funktion der Schlagfrequenz. Pflügers Arch. **260**, 24 bis 39 (1954).

Trautwein, W., U. Gottstein u. J. Dudel: Der Aktionsstrom der Myokardfaser im Sauerstoffmangel. Pflügers Arch. **260**, 40—60 (1954).

Trautwein, W., u. P. N. Witt: Der Einfluß des Strophanthins auf das Ruhe- und Aktionspotential der geschädigten Herzmuskelfaser. Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **216**, 197—199 (1952).

Weidmann, S.: Effect of current flow on the membrane potential of cardiac muscle. J. of Physiol. **115**, 227—236 (1951).

Weidmann, S.: The electrical constants of Purkinje fibres. J. of Physiol. **118**, 348—360 (1952).

Weidmann, S.: The effect of the cardiac membrane potential on the rapid availability of the sodium carrying system. J. of Physiol. **127**, 213 (1955a).

Weidmann, S.: Effect of calcium ions and local anaesthetics on electrical properties of Purkinje fibres. J. of Physiol. **129**, 568—582 (1955b).

Wilde, W. S.: Transport through biological membranes. Annual Rev. Physiol. **17**, 17—36 (1955).

Dozent Dr. W. Trautwein, Dr. J. Dudel,
Physiologisches Institut der Universität Heidelberg, Akademiestr. 3

Arch. exper. Path. u. Pharmakol., Bd. 232, S. 408—418 (1958)

Aus den Forschungslaboratorien der CIBA Aktiengesellschaft Basel,
Pharmazeutische Abteilung

Überdosierung von Cortexon (DOC) und Kochsalz beim Kaninchen

Von
F. Gross und H. Schmidt

Mit 5 Textabbildungen

(Eingegangen am 4. August 1957)

Während es an der Ratte verhältnismäßig leicht gelingt, durch Überdosierung von Cortexon und Kochsalz Hochdruck und andere pathologische Veränderungen hervorzurufen, ist es bei anderen Tierarten wesentlich schwieriger, durch gleiche Maßnahmen Hypertension oder arterielle Läsionen auszulösen.

Am Hund sind die Resultate nicht übereinstimmend, da einzelne Untersucher auch mit hohen Dosen keinen eindeutigen Hochdruck erzielten (Summers 1948), während andere einen signifikanten Druckanstieg beobachten konnten (Rodbard u. Freed 1942, Davis et al. 1949). Dagegen wird einheitlich berichtet, daß es am Kaninchen nicht gelingt, durch Cortexon und Kochsalz den Blutdruck zu steigern (Dexter u. Weiss 1941, Rakoff et al. 1942, Masson et al. 1953, Verniory 1951). Statt dessen traten andere, bei der Ratte nur selten oder in dieser Intensität gar nicht vorhandene Störungen in den Vordergrund, insbesondere Lähmungen der Skeletmuskulatur und bei graviden Tieren bestimmte Veränderungen (Lebernekrosen, Nekrose der Nierenrinde, Bluteiweißverschiebungen), die von Masson et al. (1953) mit den bei der Schwangerschaftstoxikose des Menschen beobachteten Läsionen verglichen wurden. Das Ausbleiben einer Blutdrucksteigerung unter Cortexonüberdosierung ist im Hinblick auf die Befunde von Pickering u. Prinzmetal 1937, über die renal ausgelöste Hypertension beim Kaninchen von Interesse, da daraus hervorgeht, daß unter geeigneten Versuchsbedingungen auch bei dieser Tierart Hochdruck auftreten kann.

Die verschiedenartige Reaktion des Kaninchens auf Maßnahmen, die an der Ratte zu Hochdruck führen, schien die Möglichkeit zu bieten, einzelne Faktoren, die für die Manifestierung einer chronischen Hypertension maßgebend sind, näher zu charakterisieren und eventuell abzuklären, welche Bedingungen dafür verantwortlich sind, daß beim Kaninchen Cortexonüberdosierung keinen Hochdruck hervorruft.

In früheren Versuchen an der Ratte ließ sich feststellen, daß es bei Überdosierung von Cortexon und Kochsalz gleichzeitig mit dem Anstieg des systematischen Blutdruckes zu einer Abnahme des Gehaltes der Nieren an pressorischen Wirkstoffen (Renin) kommt (Gross et al. 1956). Die Tatsache, daß sich unter ähnlichen Bedingungen am Kaninchen kein

Hochdruck entwickelt, ergab eine geeignete Versuchsanordnung, um zu entscheiden, ob die Verminderung der pressorischen Wirkstoffe in der Niere von direktem Einfluß auf die Entwicklung des Hochdruckes ist oder ob es sich dabei um parallele, möglicherweise voneinander unabhängige Vorgänge handelt.

Methode

Als Versuchstiere fanden männliche Kaninchen mit einem Anfangsgewicht von 1400—2100 g Verwendung. Die Tiere waren in Einzelkäfigen untergebracht und erhielten zunächst Trockenfutter, bestehend aus Heu und Gras sowie einem Gemisch aus Kartoffeln, Rüben und Hafer, und Wasser. Mit Beginn der Cortexonbehandlung wurde das Wasser durch 0,5—1%ige Kochsalzlösung ersetzt und gleichzeitig das Futter noch mit Kochsalzlösung durchfeuchtet. Die durchschnittliche Raumtemperatur betrug 23° C. Es wurden 4 verschiedene Versuchsgruppen eingesetzt.

Gruppe I (12 Tiere, 1000—1500 g) erhielt subcutan 2mal 50 mg/kg Kristallsuspension von Cortexonacetat (Durchmesser der Kristalle bis 0,1 mm) im Abstand von einer Woche. Heu und Gras wurden mit 1% NaCl-Lösung angefeuchtet. Sonst wurde kein Kochsalz zugeführt. Da sich diese Cortexondosierung als zu hoch erwies, wurden bei den folgenden Versuchen niedrigere Dosen gegeben und etwas schwerere Tiere ausgewählt.

Gruppe II (15 Tiere, 1400—2000 g) erhielt innerhalb von 53 Tagen insgesamt 50 mg/kg DCA-Kristallsuspension s. c., verteilt auf 4 Injektionen zu 20 und 3mal 10 mg/kg (Abb. 2). Der zeitliche Abstand zwischen den Injektionen richtete sich nach dem Allgemeinzustand der Tiere. Während der ersten 6 Tage der DCA-Behandlung wurde 1% NaCl als Trinkflüssigkeit gegeben. Da mehrere Tiere innerhalb dieser Zeit starben, wurde die Konzentration der Salzlösung ab 7. Versuchstag auf 0,5% herabgesetzt. Die tägliche Trinkmenge wurde angenähert bestimmt.

Gruppe III (9 Tiere, 1700—2100 g) erhielt zu Beginn des Versuches 3 pellets à 25 mg DCA in Novocain-Lokalanaesthesie subcutan implantiert. 1% NaCl-Lösung wurde als Trinkflüssigkeit gegeben, die tägliche Trinkmenge annähernd bestimmt. Bis zur 4. Woche nach der Implantation wurden insgesamt etwa 30 mg DCA resorbiert, nach 8 Wochen fand sich bei Explantation noch etwa $^1/_4$ der ursprünglich implantierten Gesamtmenge. Die pellets waren zu diesem Zeitpunkt von einer Bindegewebskapsel umgeben, die möglicherweise die Resorption des Cortexon beeinträchtigte.

Gruppe IV (6 Tiere, 1400—1700 g) erhielt während 6 Tagen täglich 1 mg und vom 7.—20. Tag täglich 2 mg DCA in öliger Lösung subcutan. Trinkflüssigkeit 1% NaCl-Lösung, die tägliche Trinkmenge wurde angenähert bestimmt.

Der Blutdruck wurde einmal wöchentlich nach der Methode von Grant u. Rothschild (1934) am Ohr gemessen.

Natrium und Kalium im Plasma wurden flammenphotometrisch mit dem Baird flame photometer (internal standard) bestimmt. Die Blutproben wurden in Röhrchen, die vorher mit einer 3,8%igen Heparinlösung ausgespült waren, aufgefangen und dann sofort zentrifugiert.

Testierung der pressorischen Aktivität der Nieren. Der Gehalt der Nieren an pressorischen Substanzen wurde an der nierenlosen Ratte testiert. Die Nieren wurden sofort nach Tötung der Tiere herausgenommen, die Rinde grob abpräpariert und daraus ein wäßriger Extrakt hergestellt (Gross u. Sulser 1956). 0,1 ml dieses Extraktes wurden Ratten, die etwa 20 Std vorher bilateral nephrektomiert worden waren, i.v. injiziert. Die dabei auftretende Drucksteigerung wurde in bezug auf Intensität (mm Hg) und Dauer (Integral der Blutdruckkurve in cm^2) ausgewertet.

Resultate

1. Allgemeinzustand

Die Mehrzahl der Tiere reagierte auf die Gabe von Cortexon und die Zufuhr von Kochsalz bereits innerhalb weniger Tage mit einer Verschlechterung des Allgemeinbefindens. In Gruppe I starben mehrere Tiere zwischen dem 5. und 12. Versuchstag, an dem nur noch 4 der 12 eingesetzten Tiere lebten. Auch diese Tiere waren abgemagert und befanden sich in so schlechtem Zustand, daß sie getötet werden mußten.

In Gruppe II lebten am 12. Versuchstag (nach einmaliger Injektion von 20 mg/kg Cortexonacetat in Kristallsuspension) von 15 Tieren noch 12 und am 40. Versuchstag nach Gabe von zwei weiteren Injektionen à 10 mg/kg noch 7 Tiere. Von den 9 Tieren der Gruppe III starben bis zum 12. Versuchstag zwei und am 40. Tag lebten noch drei Tiere. In der Gruppe IV starb von den 6 eingesetzten Tieren je ein Tier am 15. bzw. 20. Versuchstag. Die übrigen Tiere wurden 2 Tage nach der letzten Cortexon-Injektion getötet.

Tabelle 1. *Befunde bei 28 mit Cortexon und Kochsalz überdosierten Kaninchen*

Zahl der Tiere	Pleura-Erguß	Ascites	Hydro-pericard	Lungen-ödem	Lähmungen	abnorm starke Blasen-füllung	meteoritisch aufgetriebene Därme
28	13	20	13	10	9	15	8

Auch in diesen Gruppen zeigten die meisten Tiere ein reduziertes Allgemeinbefinden, verminderte Nahrungsaufnahme mit Gewichtsstillstand oder -abnahme. Dagegen stieg die Flüssigkeits- und damit die Salzaufnahme erheblich an (s. u.). Der Leib war meist stark aufgetrieben, Durchfälle wurden häufig beobachtet.

Bei der Sektion der getöteten oder spontan gestorbenen Tiere fanden sich Ergüsse im Pleura-, Pericard- und Peritonealraum, sowie Lungenödem (Tab. 1). Pleura- und Pericardergüsse waren klar, die Flüssigkeit im Peritonealraum eiweißreich mit Bildung von Gerinnseln. Die Natrium- und Kaliumkonzentration in der Ascitesflüssigkeit entsprach ungefähr derjenigen des Plasmas. Stärkere makroskopisch sichtbare Veränderungen an den Arterien wurden nicht beobachtet. Die Blase war meist sehr groß, schlaff und mit Urin gefüllt, Colon und Coecum aufgetrieben. Im übrigen sei auf die von Masson et al. (1953) mitgeteilten histologischen Befunde über Organveränderungen unter Cortexonüberdosierung am Kaninchen hingewiesen.

Am auffallendsten waren Lähmungserscheinungen, die bei 9 Tieren beobachtet wurden und die vor allem die Muskulatur des Nackens und der vorderen Extremitäten betrafen (Abb. 1). Es kommt zuerst zur

Lähmung der Nackenmuskulatur, so daß der Kopf aufgelegt wird, ähnlich wie bei dem unter Curareeinwirkung auftretenden „head drop" Phänomen, sowie zu Schwäche oder Paralyse der Extremitätenmuskeln, besonders an den Vorderbeinen. Lähmungen der Hinterextremitäten waren seltener. Von 8 weiteren Tieren, die während der Nacht starben, ist nicht anzugeben, ob bei ihnen ebenfalls Lähmungen aufgetreten waren. Zwei Tiere wurden am Morgen mit der Schnauze im gefüllten Trinkgefäß liegend aufgefunden, so daß sie möglicherweise erstickt sind.

Abb. 1. Typische Lähmungserscheinungen bei Cortexonüberdosierung am Kaninchen. Implantation von 3 pellets à 25 mg Cortexonacetat, 1%ige Kochsalzlösung als Trinkflüssigkeit. Zustand am 7. Tag nach Implantation

In den Atemwegen war allerdings keine aspirierte Flüssigkeit nachweisbar. Die Lähmungen können oft plötzlich einsetzen, meist jedoch nach vorheriger Schwäche der Beinmuskulatur und dehnen sich dann auf andere Muskelgruppen aus. Mitunter tritt der Exitus schon einige Stunden nach Einsetzen der ersten Lähmungssymptome auf. Diese Beobachtungen stimmen mit den von anderen Autoren am Kaninchen (Rakoff et al. 1942, Verniory 1951, Masson et al. 1953) und auch am Hund (Kuhlmann 1939, Selye u. Hall 1943) beschriebenen Lähmungserscheinungen überein. Im Gegensatz dazu sahen wir bei der Ratte niemals ähnliche Symptome, obwohl wesentlich höhere Dosen von Cortexon und Kochsalz gegeben wurden.

2. Kochsalzaufnahme

Nach Gabe von Cortexon und Ersatz des Wassers durch Kochsalzlösung nahmen die Tiere erheblich mehr Flüssigkeit auf als vorher. Die Bestimmung der Trinkmengen erfolgte zwar nur approximativ, jedoch war bei allen Tieren eine deutliche Zunahme, zeitweise bis zu 1,7 l/Tag, nachweisbar. Die durchschnittliche tägliche Trinkmenge stieg von 300 ml

auf 700—800 ml (Gruppe III) und auf 1100 ml (Gruppe II). Die Maximalwerte waren nach etwa 10—14 Tagen erreicht. Die Tiere der Gruppe III, die weniger Kochsalzlösung tranken, wiesen ein besseres Allgemeinbefinden auf und lebten länger, so daß anzunehmen ist, daß bei ihnen die Resorption von Cortexon aus dem Implantat beeinträchtigt war. Auch in Gruppe IV waren die Trinkmengen niedriger und der Allgemeinzustand besser als in den Gruppen I und II, Lähmungen wurden nur bei einem Tier beobachtet. Die Urinmengen nahmen entsprechend der gesteigerten Trinkmenge zu, eine Retention von Flüssigkeit war nicht zu beobachten. Ebenso wie bei der Ratte fehlten Ödembildungen wie sie beim Menschen als Folge der Überdosierung von Cortexon und Kochsalz auftreten.

Im Plasma stieg bei den Tieren der Gruppe IV die Natriumkonzentration von einem Durchschnittswert von 146,6 maeq/l auf 152,5 maeq/l an, während die Kaliumkonzentration von 4,8 maeq/l auf 3,8 maeq/l abfiel (Tab. 2). Diese Änderungen entsprechen ungefähr den an der Ratte

Tabelle 2. *Natrium- und Kaliumkonzentration im Plasma bei normalen Kaninchen und bei Cortexonüberdosierung mit und ohne Lähmungserscheinungen. Bei den Tieren, bei denen Lähmungen auftreten, ist die Kaliumkonzentration stark erniedrigt, die Natriumkonzentration dagegen höher als bei den Tieren ohne Lähmungserscheinung*

	Zahl der Tiere	Konzentration im Plasma in maeq/l	
		Na	K
normale Tiere	9	146,6 ± 0,55	4, 9 ± 0,18
mit Cortexon behandelte Tiere:			
ohne Lähmungen	6	152,5 ± 2,2	3,8 ± 0,16
mit Lähmungen	4	161,0 ± 0,5	2,6 ± 0,25

bei Anwendung höherer Cortexondosen bestimmten Werten. Der Hämatokrit zeigte keine signifikanten Änderungen. Bei Tieren mit schweren Lähmungserscheinungen der Gruppe III fand sich im Plasma eine besonders niedrige Kaliumkonzentration von 2,6 maeq/l, und eine Zunahme der Natriumkonzentration auf 161 maeq/l.

Unter der Annahme, daß die Lähmungen auf einer Kaliumverarmung beruhen, injizierten wir bei vier Tieren mit stark erniedrigter Kaliumkonzentration im Plasma 100—300 ml 1%ige Kaliumchloridlösung im Verlaufe von 1—2 Std, ohne dadurch eine akute Änderung des Zustandes zu erzielen. Trotz Zufuhr von Kalium starben drei Tiere innerhalb einiger Stunden, ohne daß die Lähmungserscheinungen zurückgingen, während sich bei dem vierten die Lähmungen im Verlaufe einiger Tage langsam zurückbildeten, ohne daß weiterhin zusätzlich Kalium gegeben wurde. Es geht daraus hervor, daß durch Normalisierung oder Steigerung der Kaliumkonzentration im Plasma die in der Muskulatur vorliegende

Störung der Kaliumverteilung nicht ohne weiteres ausgeglichen werden kann oder daß dafür zumindest längere Zeit erforderlich ist. Da die Bestimmung der Kaliumkonzentration im Plasma lediglich Rückschlüsse auf dessen Gesamtgehalt des Organismus gestattet, jedoch nicht auf die Verteilung in verschiedenen Geweben, ist es erforderlich, in weiteren

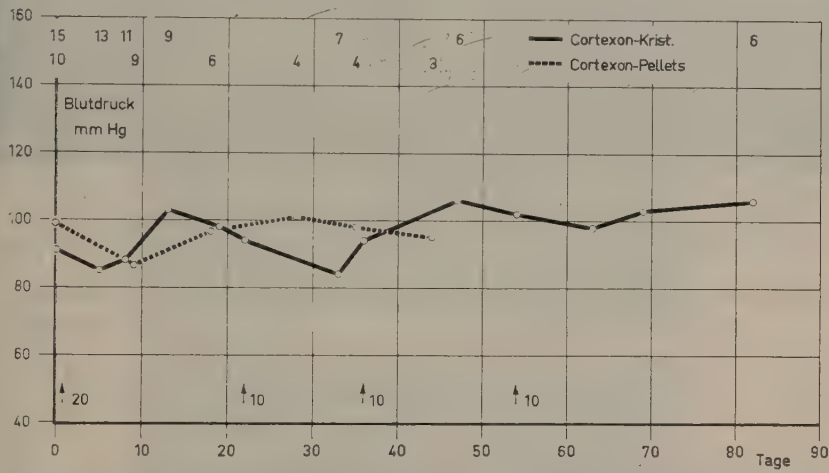


Abb. 2. Mittlerer systolischer Blutdruck der Gruppe II (——) und III (▪▪▪). Gruppe II erhielt zu Beginn des Versuches 20 mg/kg Cortexonacetat in Kristallsuspension subcutan injiziert und dann noch 3 · 10 mg/kg, Gruppe III 3 pellets à 25 mg implantiert. Oben: Anzahl der überlebenden Tiere, Ordinate: Blutdruck in mm Hg. Abszisse: Zeit in Tagen

Untersuchungen das Verhältnis zwischen extra- und intracellulärem Kalium in einzelnen Muskeln zu bestimmen und mit der jeweiligen Konzentration im Plasma zu vergleichen.

3. Blutdruck

Bei keiner der 4 Gruppen ließ sich eine vorübergehende oder dauernde Erhöhung des Blutdruckes erzielen, auch nicht bei einzelnen Tieren (Abb. 2). Es kann sogar im Anschluß an die Injektion oder Implantation von Cortexon zu vorübergehender, allerdings nur geringgradiger Druckabnahme kommen. Diese Befunde bestätigen die von anderen Autoren mitgeteilten Beobachtungen, daß es auch mit hohen Dosen von Cortexon und Kochsalz am Kaninchen nicht gelingt, einen Hochdruck hervorzurufen.

4. Pressorische Substanzen in den Nieren

Ebenso wie bei der Ratte nimmt unter Cortexon und Kochsalz der Gehalt der Nieren an pressorischen Substanzen ab, und Nierenextrakte von Tieren, die in geeigneter Weise vorbehandelt sind, rufen bei Testierung an der nierenlosen Ratte keinen Druckanstieg hervor (Abb. 3).

Die pressorische Aktivität nimmt ungefähr gleich schnell ab wie bei der Ratte (Abb. 4); nach einer Woche ist bereits eine deutliche Verminderung festzustellen und nach 2—3 Wochen sind keine pressorischen Substanzen

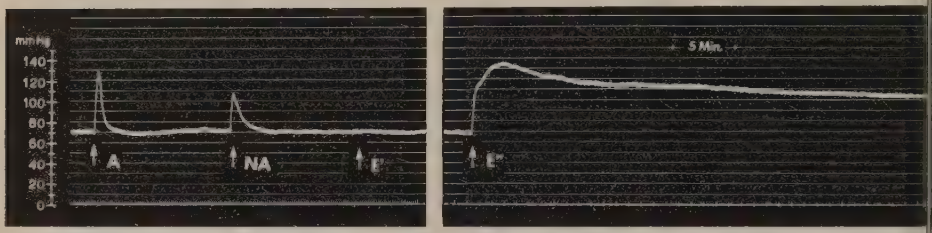


Abb. 3. Pressorische Wirkung frisch hergestellter Extrakte aus Kaninchennieren bei Testierung an der nierenlosen Ratte. *E'* Extrakt aus der Niere eines mit Cortexon und Kochsalz vorbehandelten Tieres; *E''* Extrakt aus der Niere eines nicht vorbehandelten Tieres. A : 2 γ/kg Adrenalin, NA : 2 γ/kg nor-Adrenalin. Alle Injektionen i.v. Ordinate: Blutdruck in mm Hg. Abszisse: Zeit in Minuten

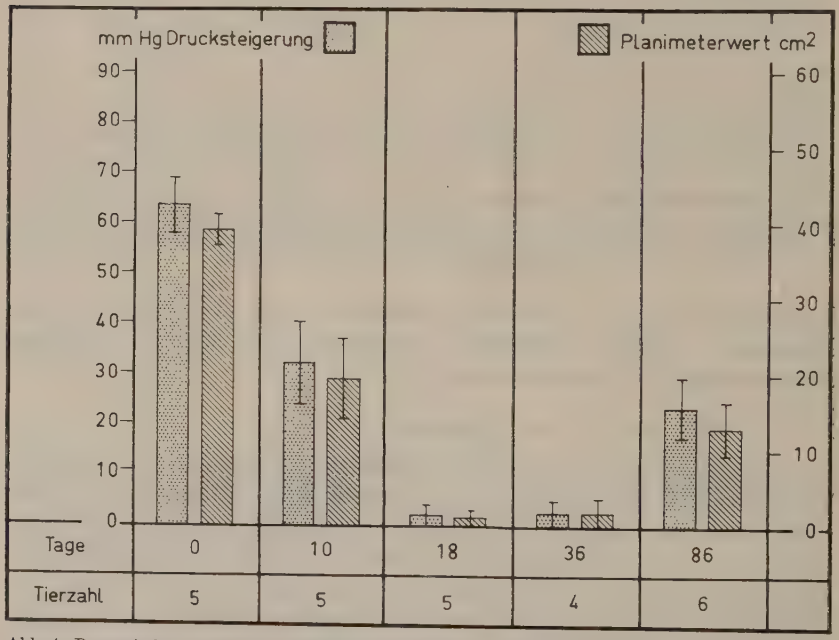


Abb. 4. Pressorische Aktivität von Extrakten aus Kaninchennieren bei Testierung an der nierenlosen Ratte. Von links nach rechts: Drucksteigerung normaler Nierenextrakte und von Nieren, die 10, 18, 36 und 86 Tage nach Beginn der Cortexonüberdosierung entnommen wurden. Nach 3—5 Wochen ist keine pressorische Aktivität mehr in den Nierenextrakten nachweisbar, während sie 4 Wochen nach der letzten Cortexon-Injektion bzw. 12 Wochen nach der Cortexon-Implantation wieder vorhanden ist. Punktierte Säulen: Druckanstieg in mm Hg. Schraffierte Säulen: Integral der Blutdruckkurve in cm^2

mehr nachweisbar. Bei abnehmender Resorption aus dem Hormondepot und dadurch bedingter verminderter Flüssigkeits- und Salzaufnahme, steigt die pressorische Aktivität der Nierenextrakte wieder an, so daß

sich das Kaninchen auch in dieser Hinsicht ähnlich wie die Ratte verhält. Ähnlich wie bei der Ratte ist auch beim Cortexon-überdosierten Kaninchen die Blutdrucksteigerung auf i.v. injiziertes Renin gegenüber dem Normaltier verstärkt (Abb. 5). Überdosierung mit Cortexon und Kochsalz führt somit am Kaninchen zwar nicht zur Entwicklung eines Hochdruckes, jedoch verschwinden dabei die im wesentlichen wohl mit Renin identischen, aus den Nieren extrahierbaren pressorischen Substanzen.

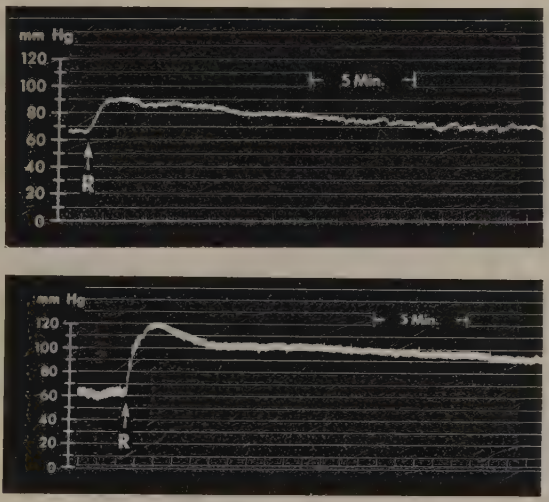


Abb. 5. Verstärkung der Reninblutdrucksteigerung bei Überdosierung mit Cortexonacetat und Kochsalz. Oben: i.v. Injektion von 1 mg Schweinerenin am nicht vorbehandelten Tier, unten: drucksteigernde Wirkung der gleichen Renindosis an einem Kaninchen, das 3 Wochen vorher mit 75 mg Cortexonacetat implantiert wurde und 1%ige Salzlösung als Trinkflüssigkeit erhielt

Besprechung der Ergebnisse

Die von uns erhobenen Befunde haben zunächst die von anderen Autoren mitgeteilten Beobachtungen bestätigt, daß Kaninchen zwar besonders empfindlich auf Überdosierung von Cortexon und Kochsalz sind, daß es aber dadurch nicht gelingt, einen Hochdruck hervorzurufen. Am stärksten sind die Symptome und die Beeinträchtigung des Allgemeinbefindens bei Gabe von Cortexonacetat in Form der Kristallsuspensionen, am leichtesten nach Injektion öliger Lösungen, obwohl dabei gleich hohe oder höhere Dosen als von den Kristallsuspensionen im gleichen Zeitraum und gleichzeitig eine stärker konzentrierte Salzlösung gegeben wurden. Es bestätigt dies die an der Ratte gemachte Beobachtung, daß Anwendungsformen mit protrahierter Wirkungsdauer, bei denen der Wirkstoff kontinuierlich aus dem injizierten Depot resorbiert wird, zur Auslösung von Überdosierungserscheinungen besser geeignet sind als kurz wirkende Applikationsformen, die auch bei täglicher Gabe von

Dosen, die höher sind als die innerhalb der gleichen Zeit aus dem Depot resorbierte Menge, weniger schwere Symptome hervorrufen.

Ebenso wie bei der Ratte oder beim Hund führt Cortexon auch beim Kaninchen zu einer vermehrten Aufnahme von Flüssigkeit und damit von Kochsalz, die mit Natriumretention und Kaliumverlust, jedoch nicht mit sichtbarer Ödembildung einhergeht. Die Natriumkonzentration im Plasma steigt auf etwa gleiche Werte an wie bei der Ratte, während der damit korrespondierende Abfall der Kaliumkonzentration beim Kaninchen meist stärker ist. Plasmawerte von 2,5 maeq/l Kalium sind nicht selten, während bei der Ratte derartig niedrige Konzentrationen nur ausnahmsweise gemessen werden. In weiteren Untersuchungen wird abzuklären sein, wie sich einzelne Gewebe in bezug auf den Gehalt an Natrium und Kalium verhalten, insbesondere im Vergleich zu analogen Bestimmungen an der Ratte und inwieweit es gelingt, durch regelmäßige Gaben von Kalium das Auftreten von Lähmungen zu verhindern. Von Hall u. Mitarb. wurde festgestellt, daß elektrokardiographische Veränderungen, die unter Cortexonüberdosierung am Kaninchen auftreten, durch Kaliumchlorid behoben werden können (1954). Auch bei diesen Tieren trat keine Blutdrucksteigerung auf, so daß nicht anzunehmen ist, daß eine Herzleistungsinsuffizienz infolge Kaliummangels wesentlich dafür verantwortlich ist, daß es beim Kaninchen nicht zum Auftreten eines Hochdruckes kommt.

Auffallend ist die unter Cortexon stark gesteigerte Capillarpermeabilität, als deren Folge Ergüsse in Pleura-, Pericard- und Peritonealraum auftreten, etwas weniger häufig auch Lungenödem. Diese Veränderungen werden an der Ratte nur selten bei alleiniger Überdosierung mit Cortexon und Kochsalz beobachtet, lassen sich aber auslösen, wenn zusätzlich Maßnahmen ergriffen werden, die eine Capillarschädigung hervorrufen, wie zum Beispiel die Injektion von Renin (Masson et al. 1952). Die dieser Permeabilitätssteigerung zugrunde liegenden Veränderungen sind nicht bekannt. Für das Ausbleiben eines Hochdruckes kann die damit einhergehende Abnahme der zirkulierenden Blutmenge und der dadurch bedingte ungenügende Füllungszustand des Gefäßsystems von Bedeutung sein, jedoch treten sie erst nach einiger Zeit auf und sind daher wohl nicht primär für das Fehlen einer Blutdrucksteigerung verantwortlich.

Ebenso wie bei der Ratte verschwinden auch beim Kaninchen unter Cortexonüberdosierung parallel mit der Natriumretention die aus der Niere extrahierbaren pressorischen Substanzen, wohl in der Hauptsache Renin. Die bisherigen Befunde, insbesondere auch die an der Ratte erhobenen, sprechen dafür, daß gesteigerte Kochsalzaufnahme, Natriumretention und Verminderung der drucksteigernd wirkenden Substanzen in der Niere miteinander verbunden sind. Dabei ist nicht mit Sicherheit

zu entscheiden, ob es sich um eine Entleerung von normalerweise gespeichertem Material handelt oder um eine Einstellung der Produktion. Dieser Vorgang ist reversibel, da nach Abklingen der Cortexonwirkung die pressorische Aktivität der Nierenextrakte langsam wieder ansteigt. Es geht daraus hervor, daß die Abnahme pressorischer Substanzen in den Nieren nicht direkt für die Entwicklung einer Hypertension verantwortlich ist, sondern daß es sich entweder um zwei voneinander unabhängige Vorgänge handelt oder daß außer der Verminderung der pressorischen Stoffe noch zusätzliche Faktoren für die Manifestierung eines Hochdruckes notwendig sind. Gleichzeitig mit der Abnahme in den Nieren steigt die Empfindlichkeit gegenüber injiziertem Renin, so daß offenbar zugeführtes Renin weniger rasch inaktiviert wird (Gross u. Sulser 1956). Die Bedeutung dieser Änderungen des Gehaltes der Nieren an pressorischen Substanzen ist bis heute noch nicht anzugeben, jedoch steht sie offenbar in Zusammenhang mit der Nierenfunktion unter langdauernder Kochsalzbelastung.

Daß es auch beim Kaninchen möglich ist, eine anhaltende Blutdrucksteigerung hervorzurufen, geht aus den Untersuchungen von Pickering u. Prinzmetal (1937) über renalen Hochdruck hervor. Zwar ist der erreichte Druck im allgemeinen niedriger als an der Ratte, aber es kommt doch meist zu signifikantem Anstieg. Bei Drosselung einer Nierenarterie bleibt der Gehalt pressorischer Substanzen in dieser Niere gleich oder steigt an, während er in der nicht gedrosselten Niere abnimmt (eigene Befunde, Bessinger u. Wakerlin 1948). Es ist zu vermuten, daß diese Niere unter ähnlichen Einflüssen steht wie die Nieren der Tiere, die mit Cortexon und Kochsalz überdosiert werden, ohne daß sich angeben ließe, warum in einem Fall Hochdruck auftritt und im anderen Fall nicht. Möglicherweise können vergleichende Untersuchungen über Natrium- und Kaliumgehalt einzelner Gewebe bei Cortexonüberdosierung und bei renalem Hochdruck Aufschlüsse über die verschiedene Reaktion des Blutdruckes unter diesen Maßnahmen geben.

Unter Überdosierung von Cortexon und Kochsalz kommt es am Kaninchen zu Natriumretention, Kaliumverarmung, gesteigerter Capillarpermeabilität und Abnahme der perssorischen Substanzen in den Nieren, dagegen nicht zu Hochdruck. Es kann daraus geschlossen werden, daß entweder keiner dieser Faktoren maßgebend für die Hochdruckentwicklung verantwortlich ist oder daß sich einzelne dieser Veränderungen gegenseitig beeinflussen und entweder teilweise oder vollständig im Hinblick auf die Blutdrucksteigerung aufheben. Die bisher vorliegenden Befunde erlauben es nicht, eine Entscheidung in der einen oder anderen Richtung zu treffen, sondern zeigen lediglich, daß offenbar beim Kaninchen eine besondere Situation im Hinblick auf die Manifestierung bestimmter Veränderungen vorliegt, die bei der Ratte unter Cortexon und

Kochsalz auftreten. Daraus geht hervor, daß eine Übertragung experimentell pathologischer Befunde von einer Tierart auf die andere und besonders auf den Menschen nur mit Einschränkungen und Zurückhaltung möglich ist.

Summary

1. In the rabbit overdosage with cortexone and salt leads to a deterioration of general condition, sodium retention and potassium loss, muscular paralysis and effusions in the pleural, pericardial and peritoneal cavities. In general rabbits are more sensitive to overdosage with cortexone and salt than rats.

2. Contrary to the rat in none of the animals a definite increase of blood pressure has been observed.

3. Kidney extracts prepared from animals pretreated with cortexone and salt showed a loss of pressor activity if tested semiquantitatively in the nephrectomised rat. It can be concluded that the disappearance of pressor active material from the kidney (renin) is not responsible per se for the development of hypertension.

4. There are various factors which may be responsible for the lack of blood pressure response in the rabbit.

Literatur

Bessinger, H. F., and G. E. Wakerlin: Amer. J. Physiol. **155**, 426 (1948).

Davis, jr., W. D., A. Segaloff, W. Jakobs and J. B. Callahan: J. Labor. a. Clin. Med. **34**, 1595 (1949).

Dexter, L., and S. Weiss: Preeclamptic and eclamptic toxemia of pregnancy, p. 139, Boston: Ed. Little, Brown and Co., 1941.

Grant, R. T., and P. Rothschild: J. of Physiol. **81**, 265 (1934).

Gross, F., P. Loustalot u. F. Sulser: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **229**, 381 (1956).

Gross, F., u. F. Sulser: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **229**, 338 (1956).

Hall, C. E., H. W. Diserens and O. Hall: Amer. J. Physiol. **176**, 130 (1954).

Kuhlmann, D.: Science (Lancaster, Pa.) **90**, 496 (1939).

Masson, G. M. C., A. C. Corcoran and J. H. Page: Arch. of Path. **53**, 217 (1952).

Masson, G. M. C., A. Lewis, A. C. Corcoran and J. H. Page: J. Clin. Endocrin. **13**, 300 (1953).

Pickering, G. W., and M. Prinzmetal: Clin. Sci. **3**, 357 (1937).

Rakoff, A. E., K. E. Paschkis and A. Cantarow: Science (Lancaster, Pa.) **96**, 322 (1942).

Rodbard, S., and S. C. Freed: Endocrinology (Springfield,Ill.) **30**, 365 (1942).

Selye, H., and C. E. Hall: Arch. Path. **36**, 19 (1943).

Summers, J. E.: Amer. J. Physiol. **154**, 119 (1948).

Verniory, A.: Arch. internat. Pharmacodynamie **85**, 451 (1951).

Arch. exper. Path. u. Pharmakol., Bd. 232, S. 419—422 (1958)

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Bonn
(Direktor: Prof. Dr. Dr. W. Schulemann)

Ein Gerät zur Blutdruckmessung an der Ratte

Von
Hans Friebel und Egon Vreden

Mit 3 Textabbildungen

(Eingegangen am 12. August 1957)

Eine zur unblutigen Messung des arteriellen Blutdrucks der Ratte geeignete Methode muß einfach sein und ein rasches Arbeiten erlauben. Narkose zur Ruhigstellung der Tiere und Erwärmung zur Eröffnung der Schwanzarterien sollten möglichst entbehrlich sein.

Für diesen Zweck sind zahlreiche Verfahren ausgearbeitet worden (Lit. bei Olmstedt u. Mitarb. sowie Luckner u. Mitarb.) nach denen arterielle Druckschwankungen plethysmographisch oder photoelektrisch registriert oder akustisch übertragen werden. Auf die Narkose konnten Greco u. Mitarb., Williams u. Mitarb. sowie Meyer u. Freed verzichten. Ein Erwärmen der Tiere haben bisher wohl nur Luckner u. Mitarb. vermieden, was allerdings nur bei Tieren bis zu einem Lebensalter von 90 Tagen möglich war. Diese Altersbegrenzung ist für pharmakologische Untersuchungen nur selten tragbar. Das Vorgehen von Luckner u. Mitarb. ist entbehrlich, wenn die Erwärmung so bemessen wird, daß zwar die Vasoconstriction der Schwanzgefäße aufgehoben wird, eine Blutdruckänderung im arteriellen System aber noch nicht auftritt.

Im folgenden wird ein Gerät beschrieben, mit dem der arterielle Druck am Schwanz nicht narkotisierter Ratten einfach, schnell und genau gemessen werden kann; es wurde in einjähriger täglicher Arbeit erprobt.

Es trägt auf einer Grundplatte einen Drehkörper, an dem drei Ausleger angebracht sind. Auf jeden kann ein Tierbehälter aufgesetzt werden. Die Behälter lassen sich durch Verstellen ihrer Stirnwand, notfalls auch durch Einlegetunnel der Körpergröße der Versuchstiere anpassen; der Schwanz der Ratte ragt aus der Verschlußklappe des Behälters heraus und liegt waagerecht auf einem Drahtrost. Er wird an seiner Wurzel durch ein aufklappbares Kästchen geführt, in dem er sich zwischen zwei Gummifingerlingen befindet. Sie bilden nach Verschluß des Kästchens und in aufgeblasenem Zustand die Druckmanschette. Ihr Druck wird mit einem Gummiballgebläse geregelt und an einem Quecksilbermanometer, das an der zentralen Säule des Gerätes angebracht ist, abgelesen. Distal von der Manschette ist ein Kondensatormikrophon nach Brecht u. Boucke angeordnet, das den Puls auf ein direktschreibendes EKG überträgt. Über jedem Ausleger befindet sich ein Wärmestrahler. Die Strahlungsintensität der nicht leuchtenden Heizkörper ist so bemessen, daß einerseits die Schwanzarterien der Ratten nach kurzem Verweilen im Strahlungskegel optimal durchblutet werden, andererseits aber innerhalb von

maximal 10 min keine Veränderungen des systolischen und diastolischen Blutdruckes auftreten. Durch Abschalten der Heizkörper, Veränderung des Abstandes vom Tierkörper bzw. durch Bedecken der Käfige mit mehrschichtigen Papierhüllen kann die Wärmeeinwirkung beliebig verringert oder auch ganz ausgeschaltet werden. Höhe und größter Durchmesser des Gerätes etwa 100 cm, siehe auch Abb. 1.

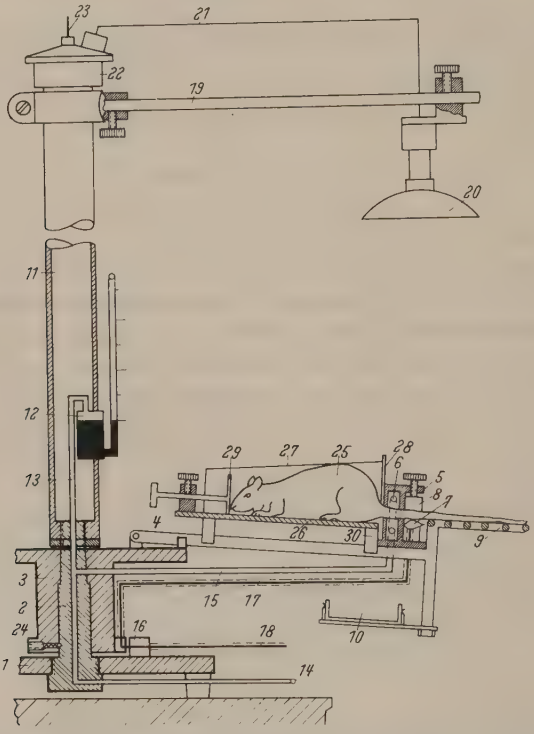


Abb. 1. Grundplatte (1) und eingeschraubte stehende Achse (2) mit Konushahn. Drehkörper (3) mit 3 Auslegern (4), von denen nur einer gezeichnet ist. und aufklappbarem Plexiglaskästchen (5) zur Aufnahme von zwei Gummifingerlingen (6), Kondensatormikrophon (7), verstellbarer gefederter Widerlage (8) für Schwanz, Gitterrost (9) zur Schwanzauflage und Kotfänger (10). Zentrale Säule (11) mit Queckksilbermanometer (12) und Druckluftleitung (13) zum Gummiballgebläse (14) und Druckmanschette (15). Abgeschirmter federnder Silberkontakt (16) mit Verbindung (17) zum Kondensatormikrophon und Verstärker → EKG (18). Drei verstellbare Ausleger (19) mit Elkostrahler (20) und Zuführungskabel (21) (nur einmal gezeichnet) zur Dreifachsteckdose (22) und Netzanschluß (23). Federnde Sperre (24) zur Fixierung, die einrastet, wenn Luft- und Mikrophonleitung des in Meßstellung stehenden Auslegers Durchgang haben zum Verstärker, Luftball und Quecksilbermanometer. Aufgesetzter Tierbehälter (25) mit Hartpapiergrundplatte (26) und Gitterdrahttunnel (27) mit Verschlußklappe (28), verstellbarer Stirnplatte (29) und Fußleisten (30) mit Führungsschlitzen

Während auf dem Ausleger, der über dem EKG steht und sich im Kontaktschluß mit dem Anzeigegerät befindet, ein- oder mehrmals hintereinander der Druck einer Ratte gemessen wird, kann man auf einem anderen ein abgefertigtes Tier durch ein neues ersetzen. Auf dem dritten beruhigt und erwärmt sich das zuvor eingesetzte Tier so lange, bis es zum Meßplatz geschwenkt werden kann. Bei Arbeitsruhe können die Ausleger hochgeklappt und an der zentralen Säule befestigt werden, so daß das Gerät einen nur kleinen Raum einnimmt.

Die mit ihm gewonnenen Werte entsprechen denen der Mehrzahl anderer Untersucher (Lit. bei Prosdij-Hartzema). Die Abb. 2 zeigt die Mittelwerte und die mittlere Streuung von Messungen des systolischen Druckes an 60 Tieren im Verlauf von 11 Monaten.

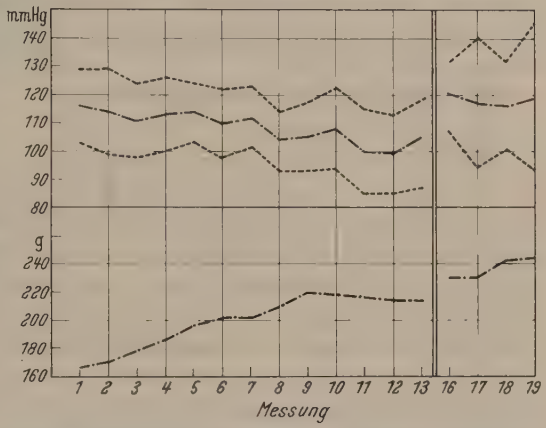


Abb. 2. Obere Kurve: Mittelwerte und mittlere Streuung des systolischen Druckes in den Schwanzarterien von 60 Ratten vom 4.—10. und 13.—15. Lebensmonat. Untere Kurve: Mittelwerte des Körpergewichtes der Tiere

Der Mittelwert lag vom 4.—10. Lebensmonat ohne grobe Abweichungen zwischen 99—116 mm Hg; im 13.—15. Monat fanden wir ihn zwischen 116 bis 120 mm Hg. Die Streuung hatte während der ganzen Beobachtungsperiode ein annähernd gleiches Ausmaß. Der Meßvorgang selbst bedingt offenbar keine Veränderung der Druckhöhe, da die Ergebnisse der 1.—3. Messung, während der sich die Tiere an die Prozedur gewöhnen und z. T. noch unruhig sind, von denen der 4. und folgenden Messungen nicht abweichen.

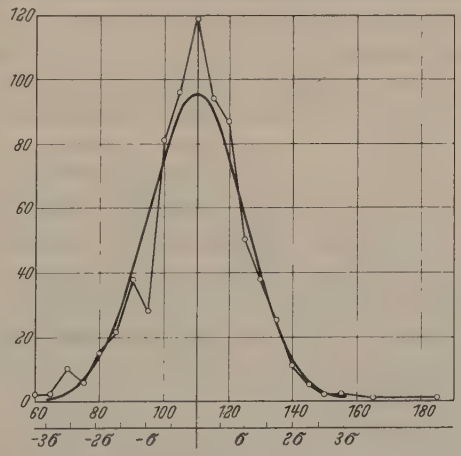


Abb. 3. Häufigkeitsverteilung von Meßwerten für den systolischen Blutdruck der Ratte; Vergleich einer beobachteten Verteilung bei 734 Einzelmessungen an 100 Tieren mit der Normalverteilung

Der „Normalbereich" des systolischen Druckes wurde aus dem Ergebnis von 734 Einzelmessungen an 100 Ratten ermittelt. Hierzu wurden die Häufigkeiten der Meßwerte in einer Gauss-Kurve dargestellt. Ein Vergleich der beobachteten Verteilung mit der berechneten Normalkurve ist in der Abb. 3 gegeben.

In Anbetracht der relativ guten Übereinstimmung wurde die Normalkurve zur Bestimmung des „normalen" Blutdruckbereiches von $-2\,\sigma$ bis $+2\,\sigma$ um den Mittelwert von 110,05 mm Hg verwandt. In diesem

Bereich von 79—141 mm Hg werden die Summenhäufigkeiten von rund 2—98% erfaßt (Weber). Blutdruckwerte, die außerhalb dieser Begrenzung lagen, wurden beim gesunden Einzeltier nur gelegentlich gemessen; nur bei einem der 100 Versuchstiere fanden wir einmal bei zwei im Abstand von etwa 1 Woche aufeinanderfolgenden Messungen Werte unter 79 mm Hg.

Ein Zusammenhang zwischen Gewichtszunahme und Druckhöhe wurde nicht beobachtet.

Die Pulsfrequenz wurde regelmäßig registriert, Mittelwert und mittlere Streuung dieses Normalkollektivs betrugen 368 $\pm$ 61,80. Rückschlüsse aus dem Pulsverhalten auf die Kreislauffunktion waren nicht möglich, da die Frequenzschwankungen erheblich sind und beim Einzeltier von Messung zu Messung 100 Schläge/min überschreiten können.

Summary

Description of an apparatus for measuring arterial blood pressure in the tail of an intact rat. The pulse-wave is transmitted to a direct-recording EKG with the help of the condensor-microphone of Brecht and Boucke. A simple, quick and accurate measurement of systolic blood pressure in conscious animals has been rendered possible by this apparatus. The blood pressure and pulse-frequency of a hundred healthy animals were recorded.

Den Bau des Gerätes und die Zeichnung verdanken wir dem Feinmechanikermeister des Instituts, Herrn J. Kurschilgen, eine große Zahl von Messungen Herrn W. Dressler.

Literatur

Brecht, K., u. H. Boucke: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **217**, 399 (1953).

Greco, F., F. Olmstedt, G. Masson and A. Corcoran: J. Labor. a. Clin. Med. **41**, 729 (1953).

Luckner, H. F., Müller u. G. Ziegler: Pflügers Arch. **258**, 343 (1954).

Meyer, F., and S. Freed: Proc. Soc. Exper. Biol. a. Med. **70**, 670 (1949).

Olmstedt, F., A. Corcoran and J. Page: Circulation **3**, 722 (1951).

van Proosdij-Hartzema, E. G.: Acta physiol. et pharmacol. Neerl. (Amsterd.) **3**, 472 (1954).

Weber, E.: Grundriß der biologischen Statistik, 2. Aufl. Jena: Fischer 1956.

Williams, J., T. Harrison and A. Grollmann: J. Clin. Invest. **18**, 373 (1939).

Prof. Dr. H. Friebel, Pharmakolog. Inst. d. Univ. Bonn, Reuterstr. 2b

Arch. exper. Path. u. Pharmakol., Bd. 232, S. 423—432 (1958)

Aus dem Pharmakologischen Institut der Medizinischen Universität Budapest
(Direktor: Prof. Dr. B. Issekutz sen.)

Zur Theorie der Oberflächenanaesthesie

Von
F. Herr und S. Balogh

Mit 3 Textabbildungen

(Eingegangen am 27. August 1957)

In der Erklärung der Differenz zwischen Oberflächen- (Schleimhaut-) und Leitungsanaesthetica ist die Literatur nicht einheitlich (Sollmann; Fromherz; Saito; Reichelt; Schaumann). Der entscheidende Grund dieser Widersprüche ist, daß keine genügende experimentelle Daten über die Resorption, Diffusion und Absorption der Lokalanaesthetica vorliegen. Nach Reichelt kann zur Zeit eine Theorie der Oberflächenanaesthesie nicht aufgestellt werden. Lendle u. Mohrmann haben in letzter Zeit diese Frage mit Hilfe einer „Austauschreaktion" an Fischen geprüft.

Wir haben zur Erklärung der Differenz der Wirkungsverhältnisse zwischen Leitungs- und Schleimhautanaesthesie das Verhalten 1. bei der isolierten Katzencornea; 2. bei der isolierten Schleimhaut der Katzenblase und 3. bei der Katzencornea in vivo untersucht.

Methode

Innerhalb 10 min nach der Tötung einer Katze haben wir die Augen herausgenommen und an der Innenseite des Auges rund um den Nervus opticus herum die Sklera herausgeschnitten. Den Glaskörper, die Linse und die Iris haben wir entfernt und den Augensack mit physiologischer Kochsalzlösung ausgewaschen. Danach haben wir das Auge auf ein Glasrohr mit verstärktem Rand gesetzt und am Rande der Cornea mit einem Nylonfaden aufgebunden. Bei einem Teil der Versuche wurde ein dünnes Rohr mit einem Durchmesser von 7 mm benutzt. Dabei hatte auch der Rand einen kleineren Durchmesser als die Cornea, sie wurde deswegen über den Rand hinausgezogen. Das brachte den Vorteil, mit einer kleineren Flüssigkeitsmenge arbeiten zu können. Bei Experimenten, bei denen wir die Permeation der Lokalanaesthetica prüften, und bei den in vivo-Experimenten wurde ein weites Rohr mit 12 mm Durchmesser verwendet. Bei diesem bedeckte die Cornea die ganze Öffnung. Die auf die Röhren gebundenen Corneae wurden bis zum Beginn des Experimentes, jedoch höchstens 20 min in physiologische Kochsalzlösung von Zimmertemperatur getaucht.

Die Experimente mit der isolierten Schleimhaut der Katzenblase wurden mit dünnem Rohr durchgeführt. Die Schleimhaut der Blase läßt sich in einer Stärke von 0,25—0,5 mm von der Muskelschicht ablösen. Die abgelöste Schleimhaut wurde in ähnlicher Weise wie die Cornea auf das dünne Rohr gebunden und behandelt.

Die so vorbereiteten Präparate haben wir in ein Hagedorn-Glas getaucht, welches die Lokalanaestheticumlösung enthielt (Abb. 1). Die Hagedorn-Gläser

wurden in einem Wasserbad von 30° C geschüttelt (50—60 min). Bei den Experimenten mit dünnen Röhren haben wir 0,6 ml Lösung benutzt. Diese Menge genügte, um die gesamte Oberfläche der Cornea mit der Flüssigkeit in Berührung zu bringen. Bei den weiten Röhren haben wir das Experiment mit 1,5 ml Lokalanaestheticumlösung durchgeführt. Da wir mit kleinen Flüssigkeitsmengen gearbeitet haben und die Resorption der Lokalanaesthetica an der Abnahme der Konzentration der Lösungen gemessen wurde, war es außerordentlich wichtig, eine Verdünnung der vorgelegten Lösung durch an der Cornea haftende NaCl-Lösung zu vermeiden. Aus

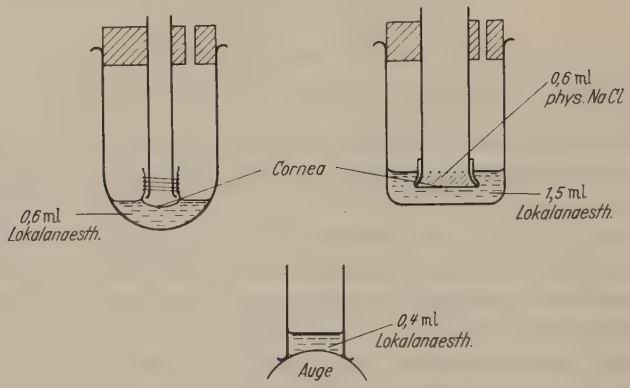


Abb. 1. Versuchsanordnungen

diesem Grunde haben wir die Präparate vor dem Eintauchen in die Lokalanaestheticumlösung zweimal für 2—3 sec mit der entsprechenden Konzentration des zu prüfenden Lokalanaestheticums abgewaschen und danach mit Filtrierpapier abgesaugt.

Bei den in vivo-Experimenten haben wir die mit Urethan narkotisierte Katze in Seitenlage gebracht und eine weite Röhre auf das Auge angelegt, die mit der Hand festgehalten wurde. Die Cornea wurde 2mal nacheinander mit der zu prüfenden Anaestheticumlösung gewaschen und die Lösung mit einer Pipette herausgesaugt. Auf die so vorbereitete Cornea brachten wir 0,4 ml Lokalanaestheticumlösung und bewegten diese mit einem feinen Luftbläser 5 min lang auf dem Auge. Danach wurde der Anaestheticum-Gehalt von 0,2 ml Lösung bestimmt.

Die Lokalanaesthetica wurden in 5% K-Na-Phosphatpuffer enthaltender physiologischer Kochsalzlösung gelöst. Die Experimente haben wir bei p_H 7,4 durchgeführt, mit Ausnahme derjenigen, in welchen der Einfluß des p_H geprüft wurde. Während der Experimente trat eine Schwellung der Cornea ein. Diese Schwellung konnte nicht vermieden werden, trotz Anwendung von hypo- und hypertonischen Lösungen und von 6% Dextran enthaltenden Salzlösungen. Die Gewichtszunahme der Cornea kann in einer Stunde 30—40% ausmachen.

Für die Experimente wurden Procain (p-Amino-benzoyl-diaethylamino-aethanol), Cocain, Tetracain (p-Butylamino-benzoyl-dimethylamino-aethanol) und Nupercain (2-Butyloxy-cinchoninsäure-diaethylen-diamid), alle als HCl-Salz verwendet. Die Lösungen wurden jeden 2. Tag erneuert.

Die quantitative Bestimmung der Lokalanaesthetica geschah durch Extinktionsmessung im UV-Bereich (Herken u. Kalow). Die Messungen konnten in wäßrigen Lösungen nicht durchgeführt werden, weil sich verschiedene Stoffe von der Cornea und der Schleimhaut herauslösten, die die Bestimmung störten. Die Lösungen wurden deshalb nach Alkalisierung mit Heptan geschüttelt, in welchem sich die

Lokalanaestheticum-Basen gut lösen und durch welches die Anaesthetica von störenden Stoffen befreit werden können. Bei $5 \cdot 10^{-4}$ mol/l und bei dünneren Lösungen war der Weg der Bestimmung folgender: 0,4 ml Anaestheticum + 0,1 ml 0,05 mol/l NaOH + 4 ml Heptan. Nach Zugabe von Lauge und Heptan wurde das Gemisch sofort 2 min lang intensiv geschüttelt und nach Klärung des Heptans die Extinktion gemessen. Bei stärker konzentrierten Lösungen haben wir entsprechend mehr Heptan benutzt, bei 10^{-3} mol/l z. B. 8 ml. Mit dieser Methode kann man 10^{-5} mol/l Lokalanaestheticum als kleinste Konzentration bestimmen, was z. B. beim Procain 2,7 μg/ml entspricht. Die Extinktion wurde bei folgender Wellenlänge gemessen: Procain 270 mμ; Cocain 235 mμ; Tetracain 290 mμ und Nupercain 240 mμ.

Ergebnisse

In der ersten Versuchsreihe haben wir die Cornea und die Blasenschleimhautstücke eine Zeit lang in 0,6 ml $5 \cdot 10^{-4}$ mol/l Lokalanaestheticumlösung inkubiert und dann geprüft, wieviel Anaestheticum in der Lösung fehlt. Auf der Abb. 2 sind auf der Abszisse die Zeit und auf der Ordinate die von der Cornea (a) bzw. von der Blasenschleimhaut (b) aufgenommene Lokalanaesthetica-Mengen in 10^{-8} Mol aufgezeichnet. Jeder Punkt bedeutet den Mittelwert der Resultate von mindestens drei Cornea-Experimenten. Wie ersichtlich, kann man schon nach 5 min eine deutliche Differenz in der Aufnahme der verschiedenen Anaesthetica nachweisen. Bemerkenswert ist aber, daß zwischen Cocain und Procain in diesem Zeitpunkt noch keine signifikante Differenz besteht. Die Kurven steigen bis zur 10. min linear an, und verlaufen bis 30. min wesentlich flacher. Die Reihenfolge der Bindung der Lokalanaesthetica in der Cornea und in der Blasenschleimhaut ist dieselbe wie die Reihenfolge der Wirksamkeit bei der Oberflächenanaesthesie, d. h. von der stärker wirksamen Verbindung wird auch mehr aufgenommen. Daß hier nicht von einer Spaltung der Anaesthetica die Rede sein kann, sondern von einer reversiblen Bindung, konnten wir dadurch beweisen, daß wir die Lokalanaesthetica von der Cornea zurücklösen konnten. Nach dem Abwaschen wurde die Cornea in physiologische Kochsalzlösung (2 bis 10 ml) gebracht. Schon durch einmaliges Auswaschen von 15 min konnte man den größten Teil der verschwundenen Anaesthetica zurückgewinnen (s. später).

Bei den Schleimhautexperimenten (Abb. 2 b) bedeuten die Punkte von 5 und 10 min den Mittelwert von je 4 und die von 30 min von je 3 Versuchen. Wie an der Cornea wurde 0,6 ml $5 \cdot 10^{-4}$ mol/l Lokalanaestheticalösung vorgelegt. Die Oberfläche, die mit der Lösung in Berührung gekommen ist, war ungefähr so groß, wie die der Cornea. Aus dem Vergleich der Abbildungen ist ersichtlich, daß die Schleimhaut von einer gleich konzentrierten Lösung in der gleichen Zeit weniger Lokalanaesthetica aufnimmt als die Cornea. Trotzdem aber stimmt das Verhältnis der aufgenommenen Mengen gut mit dem bei der Cornea

gefundenen überein. Dieser Befund erklärt die Tatsache, daß an der Blasenschleimhaut dieselben Lokalanaesthetica wirksam sind wie bei der Cornea, daß aber größere Konzentrationen benötigt werden.

In weiteren Experimenten haben wir die Permeation der Lokalanaesthetica durch die Cornea geprüft. Die auf das dicke Rohr gebundene Cornea wurde in 1,5 ml 10^{-3} mol/l Anaestheticumlösung getaucht und 30 min lang inkubiert. Auf die innere Seite der Cornea wurde 0,6 ml 5%igen Phosphatpuffer enthaltende physiologische Kochsalzlösung gebracht. Die Röhren wurden so tief in Lokalanaestheticalösung geschoben,

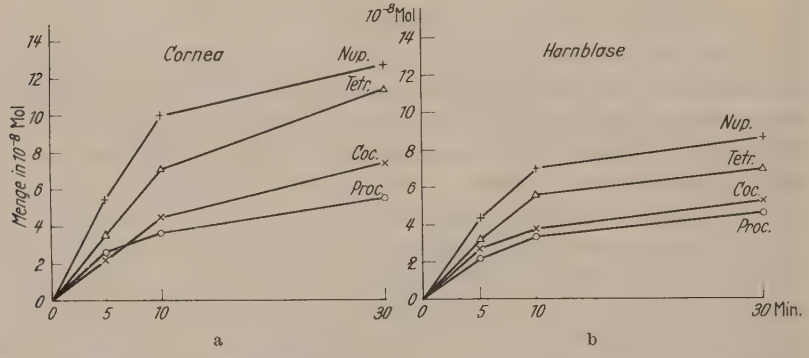


Abb. 2. Aufnahme der Lokalanaesthetica von der Cornea (a) und von der isolierten Blasenschleimhaut (b) bei pH 7,4

daß das Flüssigkeitsniveau innerhalb und außerhalb des Rohres gleich war. Nach 30 min haben wir die Anaesthetica in der äußeren und inneren Flüssigkeit bestimmt (Tab. 1). Die Reihenfolge der Aufnahme ist wieder die gleiche wie bei der Abb. 2, sie ist aber entgegengesetzt, wenn man das Durchdringen der Lokalanaesthetica an der Cornea prüft, d. h. den Prozentsatz, der von der resorbierten Menge durchgedrungen ist. Während man z. B. vom Procain 20% der resorbierten Lokalanaesthetica an der inneren Seite der Cornea findet, sind vom Nupercain nur 2,6% der resorbierten Menge durch die Cornea gelangt. Zwischen starken Schleimhautanaesthetica und schwachen Schleimhautanaesthetica (= Leitungsanaesthetica) besteht demnach der Unterschied nicht nur darin, daß von den stärker wirksamen mehr resorbiert wird, sondern daß die Bindung im Gewebe bei Schleimhautanaesthetica auch stärker ist.

Grundsätzlich dasselbe Ergebnis zeigt auch die Auswaschbarkeit der Lokalanaesthetica aus der Cornea (Tab. 2). Bei diesen Experimenten gingen wir ähnlich vor wie bei den vorhergehenden. Zur Bestimmung der auswaschbaren Mengen wurde die Cornea aus der Lokalanaestheticumlösung herausgenommen, mit physiologischer Kochsalzlösung abgespült und danach dreimal nacheinander für 10 min in physiologischer

Kochsalzlösung (Phosphatpuffer p_H 7,4) bei 30° C geschüttelt, wobei für die äußere Seite der Cornea 1 ml und für die innere Seite 0,5 ml Flüssigkeit angewendet wurden. Die Waschlösungen der Innen- und Außenseite wurden zusammengegossen und auf Anaestheticum-Gehalt geprüft. Man kann sehen, daß das Procain schon durch zweimaliges Waschen vollständig eluierbar ist, bei den übrigen ist aber auch noch in der dritten

Tabelle 1. *Isolierte Katzen-Cornea in 1,5 ml 10^{-3} mol/l Lokalanaestheticum getaucht.* Auf der inneren Seite der Cornea 0,6 ml phys. Kochsalzlösung. 30 min 30° C. p_H 7,4

Lokalanaestheticum	Zahl der Experimente	Resorbierte Menge der Lokalanaesthetica		Durchgedrungene Menge der Lokalanaesthetica		Von resorbierter Menge ist durchgedrungen
		10^{-3} Mol	µg	10^{-3} Mol	µg	%
Procain	5	12,0 ± 1,3	32,6	2,4 ± 0,38	6,53	20
Cocain	5	16,8 ± 2,0	57,0	2,4 ± 0,4	8,15	14,3
Tetracain	4	21,6 ± 1,6	64,9	1,0 ± 0,1	3,03	4,68
Nupercain	5	32,4 ± 2,8	123,0	0,84 ± 0,06	3,2	2,6

Tabelle 2. *Isolierte Katzen-Cornea in 1,5 ml 10^{-3} mol/l Lokalanaestheticum getaucht.* Auf der inneren Seite der Cornea 0,6 ml physiol. NaCl. Nach 30 min die Cornea abgespült und dreimal für 10 min in 1,5 ml phys. NaCl. getaucht. Alle Lösungen auf p_H 7,4 eingestellt

	1	2	3				4	5	
Lokalanaestheticum	Aufgenom. Menge in 10^{-3} Mol	An Cornea durchgedrungene Menge in 10^{-3} Mol	Auswaschbare Menge in 10^{-3} Mol				2 + 3	Zunahme + oder Abnahme —	
			Waschungen			Insgesamt	10^{-3} Mol	in 10^{-3} Mol	in %
			I	II	III				
Procain	15,0	3,5	9,4	4,7	—	14,1	17,6	+ 2,6	+17
Cocain	19,2	3,0	8,5	5,9	2,8	17,2	20,2	+ 1,0	+ 5,2
Tetracain	24,6	1,44	10,2	6,7	3,7	20,6	22,0	— 2,56	—10, 4
Nupercain	33,7	0,9	12,8	7,4	5,0	25,2	26,1	— 7,6	— 22,5

Waschlösung eine erhebliche Menge Lokalanaestheticum. Wenn wir die Anaestheticum-Menge, welche von der Lösung fehlt, vergleichen mit der, welche durch die Cornea gedrungen ist und welche durch Waschen zurückgewinnbar ist, dann sieht man, daß bei dem Procain und Cocain noch eine Zunahme besteht. Wir konnten also mehr Lokalanaestheticum auswaschen, als von der Konzentrationsverminderung der Lösung gerechnet, eingedrungen ist. Die Erklärung dieses Widerspruchs haben wir durch die Gewichtsmessung der Cornea gefunden. Die Corneae sind während der 30minütigen Inkubation in den Lokalanaesthetica geschwollen und bei Herausnahme waren sie 25—35 mg schwerer als bei Anfang des Experimentes. Wir haben die Resorption der Lokalanaesthetica aus der Verdünnung der Lösung errechnet, aber es scheint so,

daß außer dieser Menge noch etwa 20% Anaestheticum mit Flüssigkeit zusammen aufgenommen wurde. Mit der Resorption von 30 mg 10^{-3} mol/l Lokalanaestheticumlösung geht $3 \cdot 10^{-8}$ Mol in die Cornea. Wenn wir bei jeder Cornea eine durchschnittliche Gewichtszunahme von 30 mg annehmen, dann haben wir die Erklärung, warum wir von Procain 117% zurückgewonnen haben. Da aber die Cornea auch in anderen Lösungen anschwillt, läßt sich feststellen, daß bei Anwendung von Tetracain und Nupercain ein geringerer Prozentsatz des in der Cornea befindlichen Lokalanaestheticum ausgewaschen werden kann als wir errechnet haben Diese Schleimhautanaesthetica haften also viel stärker im Gewebe der Cornea als Procain und Cocain.

Bei Benutzung von $5 \cdot 10^{-4}$ mol/l Lokalanaestheticumlösungen ist die Konzentrationsverminderung nach 60 min innerhalb der Fehlergrenze

Tabelle 3. *Verteilungskoeffizient der Lokalanaesthetica.* Cornea/Wasser bei p_H 7,4

Lokalanaestheticum	10^{-4} mol/l	$5 \cdot 10^{-4}$ mol/l	10^{-3} mol/l	$5 \cdot 10^{-3}$ mol/l	
	0,6 ml	0,6 ml	1,5 ml	0,6 ml	
	30 min	30 min	30 min	30 min	60 min
Procain	1,67	1,09	1,39	0,73	0,98
Cocain	2,60	1,57	1,48	0,84	1,20
Tetracain	3,60	3,02	2,38	1,23	2,10
Nupercain	4,90	3,60	3,52	1,58*	3,0*

* p_H 7,0

dieselbe wie nach 30 min, d. h. nach 30 min ist der Gleichgewichtszustand eingetreten und man kann den Verteilungskoeffizienten errechnen (s. Tab. 3). Solche Rechnungen wurden in den Experimenten gemacht, bei denen mit verschiedenen Konzentrationen der Lokalanaestheticumlösungen (50fache Differenz) und verschiedenen Flüssigkeitsmengen gearbeitet wurde. Das Gewicht der Corneae schwankte zwischen 90 bis 140 mg. Wir haben zu den Berechnungen den Durchschnittswert von 120 mg genommen. Es wurden am Ende der Versuche die in der Cornea und im Wasser befindlichen Konzentrationen zueinander ins Verhältnis gestellt. Der Verteilungskoeffizient ist bei konzentrierten Lösungen kleiner als bei dünneren, da bei den ersten der Gleichgewichtszustand noch nicht eingetreten war. Das zeigen die Experimente mit $5 \cdot 10^{-3}$ mol/l Konzentration, wo die Werte der Verteilungskoeffizienten nach 30 min im Verhältnis zu den anderen Resultaten sehr niedrig sind, sich aber nach 60 min schon den Werten von dünneren Lösungen nähern. Bei diesen Rechnungen kann man auf alle Fälle feststellen, daß das Verhältnis der Verteilungskoeffizienten der Lokalanaesthetica in Ex-

perimenten mit verschiedenen Bedingungen dasselbe ist: der Verteilungskoeffizient von Nupercain ist der dreifache dessen von Procain. Die Reihenfolge des Verteilungskoeffizienten der Lokalanaesthetica zwischen Cornea und Wasser ist dieselbe, die SCHAUMANN zwischen Äther und Wasser gefunden hat, es besteht aber eine sehr große Differenz in der Größenordnung. In SCHAUMANNS Experimenten ist der Verteilungskoeffizient von Tetracain 54mal, von Nupercain 126mal größer als der von Procain.

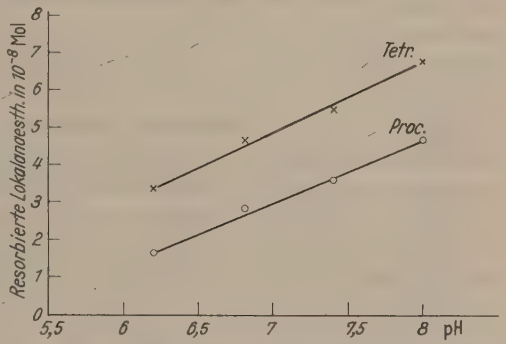


Abb. 3. Einfluß des p_H auf die Aufnahme von Procain (o) und von Tetracain (×) 0,6 ml $5 \cdot 10^{-4}$ mol/l, 10 min

Beim Procain und Tetracain haben wir den Zusammenhang zwischen Resorption und p_H der Lösung geprüft (Abb. 3). Wir haben von p_H 6,2 bis p_H 8,0 einen linearen Zusammenhang zwischen der H-Ionen-Konzentration und der resorbierten Menge gefunden. Bei p_H 8,0 ist vom Procain 2,8mal soviel aufgenommen worden wie bei p_H 6,2. Auch beim Tetracain ist eine 1,89fache Differenz. Dies erklärt gut den Befund REGNIERS und anderer Autoren (s. LAUBENDER), daß die Wirkung der Lokalanaesthetica an der Cornea mit Alkalisierung der Lösung stärker wird.

An der Cornea der Katze haben wir die in vivo-Experimente mit 10^{-3} mol/l Lokalanaestheticum-Lösung durchgeführt. Es wurden 0,4 ml Lösung auf die Cornea gebracht und nach 5 min in 0,2 ml die Bestimmung

Tabelle 4. *Aufnahme der Lokalanaesthetica an der Katzen-Cornea in vivo. 0,4 ml 10^{-3} mol/l 5 min,* p_H *7,4*

Lokalanaestheticum	Zahl der Experimente	Resorbierte Menge in 10^{-8} Mol	Mittlerer Fehler	Verhältnis
Procain	6	1,13	0,11	1
Cocain	5	1,32	0,18	1,17
Tetracain	5	2,28	0,20	1,93
Nupercain	6	2,77	0,17	2,45

gemacht (Tab. 4). Nach den Resultaten wurden auf diese Weise kleinere Mengen des Lokalanaestheticums resorbiert als von der isolierten Cornea; aber das Verhältnis der Resorption der Anaesthetica ist dasselbe. Die starken Schleimhautanaesthetica (Nupercain und Tetracain) dringen also auch in vivo in größerer Menge in die Cornea als Procain und Cocain.

Diskussion

Unsere Resultate sowohl an der isolierten Cornea als an der Cornea in vivo sowie an der isolierten Schleimhaut der Harnblase zeigen eindeutig, daß von den sogenannten Schleimhautanaesthetica größere Mengen aufgenommen werden als von den sogenannten Leitungsanaesthetica. Daneben ist aber bei Schleimhautanaesthetica auch die Haftfestigkeit im Gewebe größer. Cocain ist im pharmakologischem Sinne kein Schleimhautanaestheticum, sondern ein Leitungsanaestheticum [Herr (2)]. Nupercain wirkt an der Cornea 300mal stärker als Procain. Diese große Differenz kann durch den einzigen Gesichtspunkt, daß vom Nupercain in derselben Zeit etwa dreimal soviel aufgenommen wird wie vom Procain, nur z.T. erklärt werden. Die Differenz zwischen Leitungs- und Schleimhautanaesthetica ist folgendermaßen zu erklären (Sollmann):

Bei Anwendung der Lokalanaesthetica zu verschiedenen Anaesthesiearten sind voneinander abweichende Verhältnisse vorhanden. Am einfachsten sind diese bei der Infiltrationsanaesthesie. Hier spielen die Resorptions- und Diffusionsfaktoren keine Rolle, weil das Anaestheticum in großer Menge unmittelbar neben das Nervenende und dünne Nervenfasern gespritzt wird. Mit dieser Verabreichungsweise kann man die „absolute Wirkungsstärke" eines Lokalanaestheticums bestimmen. Diese Infiltrations-(absolute) Wirkungsstärke zeigt große Unterschiede zwischen den einzelnen Verbindungen, die bei der Erklärung der Differenz der Lokalanaesthetica an der Cornea und an der Schleimhaut berücksichtigt werden müssen. Hier sind aber die Verhältnisse schon nicht mehr so einfach wie bei der Infiltrations-Anaesthesie, und bei der Ausbildung der Wirkung spielen außer der absoluten Wirkungsstärke auch andere Faktoren eine Rolle. Vor allem muß das Anaestheticum die Nerven erreichen, d. h. es muß die oberflächlichen Zellschichten der Cornea oder der Schleimhaut durchdringen.

Die Konzentration des Lokalanaestheticums steigt somit am Nervenende nur langsam (abhängig von der Geschwindigkeit der Resorption) und erreicht stufenweise das wirksame Niveau. Gleichzeitig mit der Resorption fängt aber auch die Elimination des Lokalanaestheticums an (Weiterlieferung, Spaltung). So kann man schon nach rein theoretischer Überlegung erwarten, daß das mit größerer Geschwindigkeit eindringende und mit kleinerer Geschwindigkeit eliminierte Anaestheticum an der Cornea und an der Schleimhaut die stärkste Wirkung besitzt. So kann man sagen, daß

$$W_C = W_I \cdot EG \cdot \frac{1}{E} \text{ ist,}$$

wobei

W_C	Wirksamkeit an der Cornea
W_I	Wirksamkeit bei Infiltrationsanaesthesie
EG	Eindringungsgeschwindigkeit
E	Elimination

bedeuten.

In Tab. 5 haben wir die gefundene und die nach der Formel errechnete Wirkungsstärke an der Cornea zusammengestellt. Die Daten der

Wirkungsstärke bei der Infiltrationsanaesthesie und bei der Cornealanaesthesie sind in der zu 50%ig wirksamen Konzentration (EC_{50}) ausgedrückt [Herr (1)]. Die Wirkungsstärke, die Resorption und der Reciprokwert der Diffusion im Gewebe des Procains wurden als 1 genommen. Aus der Tabelle ist zu ersehen, daß die gefundene Wirkung mit der berechneten gut übereinstimmt; nur bei dem Tetracain fand sich ein größerer Unterschied in den zwei Werten. Man muß aber berücksichtigen, daß —

Tabelle 5. *Anaesthetische Aktivität an der Cornea.* (Siehe Text)

	I*	II**	III**	IV	V*
	Aktivität bei Infiltrationsanaesthesie Novocain=1	In der gleichen Zeit in der Cornea eingedrungene Menge Proc.=1	Reziprok der in der gleichen Zeit durchgedrungenen Menge Proc.=1	Berechnete Cornealanaesthetische Aktivität I · II · III	Gefundene Cornealanaesthetische Aktivität Proc.=1
Procain	1	1	1	1	1
Cocain	3,46	1,4	1,4	6,78	5,84
Tetracain	8,19	1,8	4,36	64,2	118
Nupercain	15,6	2,7	7,7	324	300

* Herr ** nach Tabelle 1

obwohl mit unserer Methode schon 1—2 μg/ml Lokalanaestheticum bestimmbar ist, sie nicht empfindlich genug ist, die Spaltung der Lokalanaesthetica beobachten zu können.

Die Aufnahme-Differenz des Procains und Cocains ist nur gering und deshalb nur mit empfindlichen Methoden bestimmbar. Diese Tatsache kann erklären, daß die verschiedenen Autoren bei der Untersuchung der Resorption der Leitungs- und Schleimhautanaesthetica keine eindeutige Differenz gefunden haben. Sie haben hauptsächlich den Unterschied zwischen Cocain und Procain untersucht. Mit genauen, statistischen Methoden (c/i-Index-Bestimmung) kann man nachweisen, daß, wenn wir schon die Lokalanaesthetica in zwei Gruppen einteilen wollen, dann das Procain und Cocain in die gleiche Gruppe gehören, d. h. alle beide Leitungsanaesthetica sind. Der c/i-Index ist ein Quotient, der ausdrückt wievielmal stärker die Konzentration eines Lokalanaestheticums für die Cornealanaesthesie sein muß als für die Infiltrationsanaesthesie. Beim Procain und Cocain ist der c/i-Index hoch, beim Nupercain und Tetracain ist er niedrig (beinahe 1). Ein hoher c/i-Index bedeutet, daß zum Erreichen einer Oberflächenanaesthesie eine um Vielfaches höhere Konzentration notwendig ist als zur Infiltrationsanaesthesie. Auch nach dieser Berechnung kann man in der Aufnahme des in derselben Gruppe einreihbaren Cocain und Procain keinen Unterschied erwarten.

Reichelt, der auch die Resorption von Nupercain und von Tetracain neben Procain und Cocain untersucht hat, fand keinen Unterschied unter den Werten der geprüften Verbindungen. Unsere Resultate stehen hierzu im Gegensatz. Die Ursache ist wahrscheinlich in methodischen Gründen zu suchen. Reichelt bestimmte die Resorption der Blase nach 3 Std mit einer 500mal geringer empfindlichen Methode als wir. Møller fand an Meerschweinchen, daß die Toxicität des Nupercain gleich ist, wenn er es in die Blase oder in subcutanes Gewebe verabreicht, während Cocain, in die Blase gegeben, 2 mal weniger toxisch ist als subcutan. Von dieser Beobachtung kann man auch auf größere Resorptionsfähigkeit des Nupercains folgern, was unsere Ergebnisse bestätigen. Lendle u. Mohrmann, die die Resorption der Lokalanaesthetica mit der „Austauschreaktion" an Fischen untersuchten, fanden eine andere Reihenfolge der Resorptionsgeschwindigkeit als wir. Das können die anderen Versuchsbedingungen erklären.

Zusammenfassung

Zur Untersuchung der Wirkungsweise eines Lokalanaestheticums bei Leitungs- und Schleimhautanaesthesie wurde die Aufnahme von Procain, Cocain, Tetracain und Nupercain an der isolierten Cornea und Blasenschleimhaut der Katze sowie an der Katzencornea in vivo geprüft.

Es wurde festgestellt, daß die Aufnahmegeschwindigkeit der Lokalanaesthetica an der Cornea in der folgenden Reihenfolge zunimmt: Procain < Cocain < Tetracain < Nupercain. Das Ausmaß der Aufnahme in der Blasenschleimhaut ist niedriger als bei der Cornea, das Verhältnis des Eintritts der Stoffe ist aber dasselbe.

Durch Messung der in die Cornea eingedrungenen und durch sie hindurchgetretenen Lokalanaestheticum-Menge konnte man die Bindungsstärke der Lokalanaesthetica an das Gewebe prüfen. Die Stärke der Fixierung wächst in der nachstehenden Reihenfolge: Procain < Cocain < Tetracain < Nupercain.

Die sogenannten Schleimhautanaesthetica (Nupercain und Tetracain) sind deshalb für diese Zwecke geeignet, weil ihre Aufnahme rascher und ihre Weiterleitung langsamer ist als die der Leitungsanaesthetica.

Literatur

Fromherz, K.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **93**, 34 (1922).
Herken, H., u. W. Kalow: Klin. Wschr. **1951**, 90.
Herr (1), F.: Arzneimittelforsch. im Druck.
Herr (2), F., J. Borsi u. J. Szegi: Acta physiol. (Budapest) **6**, 363 (1954).
Laubender, W.: Heffter's Hdb. d. exper. Pharmakologie Erg. Bd. VIII.
Lendle, L., u. J. E. Mohrmann: Arzneimittelforsch. **5**, 249 (1955).
Møller, K. O.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **170**, 312 (1933).
Regnier, J.: C. r. Acad. Sci. (Paris) **179**, 354 (1924).
Reichelt, E.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **187**, 41 (1937).
Saito, Y.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **102**, 367 (1934).
Schaumann, O.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **190**, 30 (1938).
Sollmann, T.: J. Pharmacol. a. Exper. Ther. **11**, 69 (1918).

Dr. F. Herr, University of Illinois
Department of Pharmacology, 1853 W. Polk St., Chicago/Ill. (USA)

Arch. exper. Path. u. Pharmakol., Bd. 232, S. 433—441 (1958)

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Wien
(Vorstand: Prof. Dr. F. Brücke)

Wechselwirkungen zwischen Physostigmin einerseits und Evipan, Procain, Largactil und Scopolamin andererseits auf die rhinencephale Tätigkeit des Kaninchens

Von
F. Brücke, S. Sailer und Ch. Stumpf

Mit 4 Textabbildungen

(Eingegangen am 4. September 1957)

Die rhinencephale "arousal reaction" ist durch eine hohe, langsame und äußerst regelmäßige Tätigkeit gekennzeichnet, die besonders beim Kaninchen gut ausgeprägt ist (Gangloff u. Monnier; Green u. Arduini; Jung u. Kornmüller; Passouant, Passouant-Fontaine u. Cadilhac; Passouant, Cadilhac u. Passouant-Fontaine). Eine solche Tätigkeit läßt sich nicht nur durch retikuläre bzw. periphere, afferente Reizungen, sondern auch durch intravenöse Verabreichung von Physostigmin auslösen (Sailer u. Stumpf). Dies kann als weiterer Hinweis für die Richtigkeit der Annahme gedeutet werden, daß der "arousal reaction" (Moruzzi u. Magoun) ein cholinerger Mechanismus zugrunde liegt (Longo; Rinaldi u. Himwich; Sailer u. Stumpf). In früheren Untersuchungen (Sailer u. Stumpf, 1957a) konnte nun gezeigt werden, daß zwischen der Intensität der (retikulären oder peripheren) Reizung und der initialen Frequenz (das ist die Frequenz innerhalb der ersten beiden Sekunden nach Reizbeginn) der durch diese Reizung ausgelösten regelmäßigen Hippocampustätigkeit eine signifikante positive Korrelation besteht; die Frequenz der rhinencephalen "arousal reaction" sinkt auch bei noch anhaltendem Reiz in annähernd exponentieller Weise ab. Unter dem Einfluß von Substanzen, die die "arousal reaction" hemmen, zeigt die initiale Frequenz der rhinencephalen "arousal reaction" — solange diese nicht vollständig blockiert ist — ein unterschiedliches Verhalten: sie sinkt nach Verabreichung von Evipan, Procain und Largactil ab, bleibt hingegen nach Verabreichung von Scopolamin unverändert bestehen (Brücke, Sailer u. Stumpf).

Da — wie bereits erwähnt — Physostigmin die rhinencephale Tätigkeit weitgehend gleichartig beeinflußt wie eine elektrische retikuläre oder periphere Reizung, interessierte uns nun die Frage, ob die durch Physostigmin ausgelöste rhinencephale Tätigkeit durch Evipan, Procain,

Largactil und Scopolamin ebenfalls in gleicher Weise beeinflußt wird wie die Tätigkeit während einer elektrischen Reizung. Über die Ergebnisse der zur Klärung dieser Frage durchgeführten Untersuchungen wird in der vorliegenden Arbeit berichtet.

Methodik

Die Versuche wurden an 17 wachen, nicht curarisierten Kaninchen im Gewicht von 2,0—2,5 kg durchgeführt. Das EEG wurde nach der von Monnier u. Laue angegebenen stereotaktischen Methode bipolar, und zwar jeweils vom Neocortex der linken und vom dorsalen Rhinencephalon (Hippocampus) der rechten Hemisphäre abgeleitet und mit Hilfe eines Schwarzer-Elektroencephalographen, Type E 502, registriert. Nähere Einzelheiten, sowie Angaben über die genaue Elektrodenlokalisation sind in unserer früheren Arbeit beschrieben (Sailer u. Stumpf 1957a).

Bei jedem Versuch wurde nach dem Einführen der Tiefenelektrode eine Pause von mindestens 30 min eingeschaltet. Nach Ablauf dieser Zeit wurde jeweils 0,5 mg/kg Physostigminum salicylicum intravenös injiziert. 2—3 min nach der Injektion ist die Physostigmin-Wirkung voll ausgeprägt: die präzentrale Tätigkeit ist niedrig und hochfrequent, im Hippocampus findet sich eine regelmäßige, hohe Tätigkeit mit einer Frequenz um 6 Hz. Erfahrungsgemäß bleibt diese Tätigkeit mindestens 25—30 min lang unverändert bestehen; später wird die Frequenz der Hippocampustätigkeit allmählich langsamer und schließlich zeigen sich Desynchronisierungserscheinungen. Es wurde nun die Beeinflussung der durch Physostigmin ausgelösten, regelmäßigen Hippocampustätigkeit durch folgende Substanzen untersucht: N-Methyl-cyclohexenylmethylbarbitursaures Natrium („Evipan-Natrium" Bayer), p-Amino-benzoyl-diäthylaminoäthanolhydrochlorid („Procain" Merck), 10-(γ-dimethylaminopropyl)-2-chlorphenothiazin („Largactil" Specia) und Scopolaminum hydrobromicum. Die genannten Substanzen wurden jeweils genau 5 min nach der Physostigmin-Verabreichung ebenfalls intravenös injiziert. Jede Substanz wurde an je 4 Tieren untersucht.

Die Frequenz der Hippocampustätigkeit wurde in der Weise bestimmt, daß jeweils die Anzahl der regelmäßigen Potentialschwankungen in mehreren 20 aufeinanderfolgenden 2 sec-Perioden ausgezählt wurde.

Ergebnisse

Physostigmin (0,5 mg/kg i.v.) bewirkte in allen Versuchen im Hippocampus eine hohe, außerordentlich regelmäßige 5,5—6,5 Hz-Tätigkeit mit einer bipolaren Phasenumkehr 4,5 mm hinter der Coronarnaht. Die erwähnte Schwankungsbreite der Frequenz bezieht sich praktisch ausschließlich auf die Unterschiede zwischen den einzelnen Tieren. Bei ein und demselben Tier zeigte die Frequenz der Hippocampustätigkeit innerhalb des Zeitraumes von 3—5 min nach der Physostigmin-Injektion (d. h. also innerhalb von 60 aufeinanderfolgenden 2 sec-Perioden) meist überhaupt keine Streuung. Infolge dieser hohen Konstanz können auch relativ geringfügige, durch irgendwelche Maßnahmen erzielte Frequenzänderungen als beweisend angesehen werden. Die gleiche regelmäßige Tätigkeit ließ sich immer, wenn auch mit erheblich kleineren Amplituden, über dem parieto-occipitalen Cortex nachweisen; präzentral fand sich eine niedrige, hochfrequente Tätigkeit ohne Spindeln.

5 min nach der Physostigmin-Injektion wurde nun zusätzlich Evipan, Procain, Largactil oder Scopolamin verabreicht. Hierbei konnten folgende Befunde erhoben werden:

I. Evipan

Unmittelbar nach der Injektion von 10 mg/kg Evipan zeigte das EEG für einen Zeitraum bis etwa 5 min post inj. Veränderungen, wie sie auch nach der Verabreichung einer gleich großen Evipan-Dosis am nicht vorbehandelten Tier beobachtet werden können: präzentral traten reichlich Spindeln auf, die Hippocampustätigkeit war völlig unregelmäßig. Diese Tätigkeit bleibt bei nicht mit Physostigmin vorbehandelten Tieren längere Zeit bestehen. In unseren Versuchen trat jedoch bereits ca. 5 min nach der Evipan-Injektion eine Regularisierung der Hippocampustätigkeit in Erscheinung, deren Frequenz zu diesem Zeitpunkt 4—4,5 Hz betrug. Im Verlauf der folgenden 15—20 min stieg die Frequenz der regelmäßigen Hippocampustätigkeit allmählich wieder auf jenen Wert an, der vor der Evipan-Injektion bestanden hatte, d. h. auf durchschnittlich 6 Hz. Gleichzeitig mit der Regularisierung der Hippocampustätigkeit war in den corticalen Ableitungen eine allgemeine Amplitudenabnahme und ein Verschwinden der Spindeln zu beobachten; die Frequenz der corticalen Tätigkeit war meist mit der des Hippocampus identisch, gelegentlich waren jedoch auch schnellere Frequenzen (bis zu 9 Hz) vorhanden, die keine Beziehungen zur Hippocampustätigkeit erkennen ließen. Spätestens 25 min nach der Evipan-Injektion zeigte das EEG in allen Versuchen wieder die gleichen

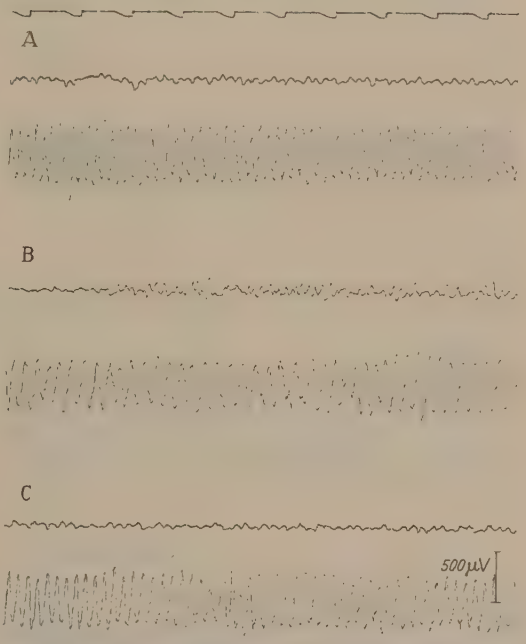


Abb. 1. Kaninchen-EEG, und zwar A: 4 min nach 0,5 mg/kg Physostigmin, B: 7 min nach zusätzlicher Verabreichung von 10 mg/kg Evipan, C: 20 min nach der Evipan-Injektion. In jedem Teil der Abbildung stellt jeweils die obere Kurve die Tätigkeit des fronto-parietalen Cortex, die untere Kurve die Tätigkeit des dorsalen Rhinencephalon dar. Zeitschreibung in Sekunden

Merkmale wie vor der Evipan-Verabreichung. Eine vollkommene Rückkehr der Hippocampusfrequenz zum Ausgangswert konnte nicht immer festgestellt werden, eine Tatsache, die wohl damit zu erklären ist, daß die Wirkung von Physostigmin 30 min nach seiner Zufuhr bereits im Abklingen begriffen ist, wobei auch die Hippocampusfrequenz allmählich wieder absinkt.

Abb. 1 zeigt einen typischen Versuch. 4 min nach 0,5 mg/kg Physostigmin betrug die Hippocampusfrequenz 6 Hz (Abb. 1 A). 5 min nach Physostigmin wurden 10 mg/kg Evipan gegeben. 7 min später war die Hippocampustätigkeit bereits wieder regularisiert, ihre Frequenz betrug jedoch nunmehr im Durchschnitt 4,3 Hz; cortical läßt sich eine Tätigkeit erkennen, die zur Hippocampustätigkeit keine Beziehungen aufweist (Abb. 1 B). 20 min nach der Evipan-Injektion zeigt das EEG wieder dieselben Merkmale wie nach Physostigmin allein, die Frequenz der Hippocampustätigkeit ist jedoch noch etwas erniedrigt (durchschnittlich 5,4 Hz) (Abb. 1 C).

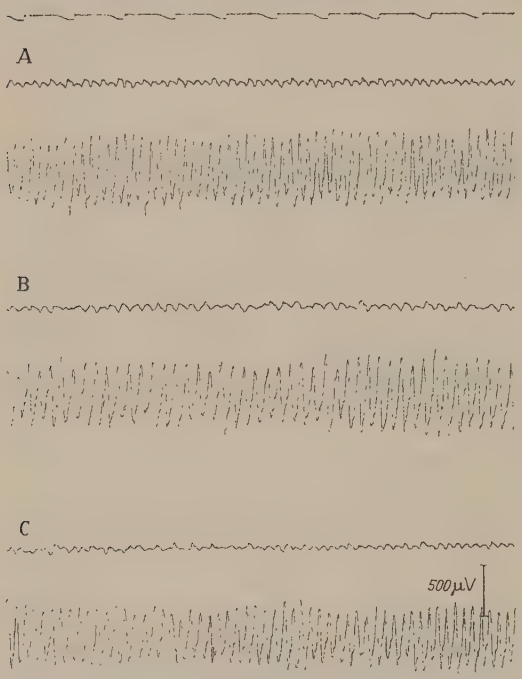


Abb. 2. Kaninchen-EEG, und zwar A: 4 min nach 0,5 mg/kg Physostigmin, B: 4 min nach zusätzlicher Verabreichung von 10 mg/kg Procain, C: 10 min nach der Procain-Injektion. Ableitungen wie in Abb. 1

Unter der Wirkung von Physostigmin + Evipan waren die Tiere gegenüber verschiedenen äußeren Reizen empfindlicher als es auf Grund der verabreichten Evipan-Dosis zu erwarten wäre. So führten z. B. schwache akustische Reize unmittelbar nach der Evipan-Injektion zu einer deutlichen Regularisierung der Hippocampustätigkeit.

II. Procain

In zwei Versuchen verursachten 10 mg/kg Procain unmittelbar nach der Injektion eine Erhöhung der Frequenz der regelmäßigen Hippocampustätigkeit von ca. 6 Hz auf 8—9 Hz. Diese EEG-Veränderung

war mit einem starken motorischen Erregungszustand der Tiere vergesellschaftet. Die Frequenzzunahme hielt jedoch nur 2—3 min lang an und ging dann in eine Frequenzabnahme auf 4,5—5 Hz über. Bei den beiden anderen Versuchen trat diese Frequenzabnahme unmittelbar nach der Procain-Injektion in Erscheinung. Die Frequenz des corticalen Grundrhythmus zeigte gleichartige Veränderungen. Wie bei den Evipan-Versuchen stieg auch hier die Frequenz der Hippocampustätigkeit in der Folgezeit allmählich wieder an und erreichte im allgemeinen nach etwa 10—15 min den Ausgangswert.

Abb. 2 zeigt einen derartigen Versuch. 0,5 mg/kg Physostigmin verursachten im Hippocampus eine regelmäßige Tätigkeit mit einer Frequenz von durchschnittlich 5,9 Hz (Abb. 2 A). 4 min nach 10 mg/kg Procain betrug die Hippocampusfrequenz durchschnittlich 4,5 Hz (Abb. 2 B) und 10 min später wieder 5,6 Hz (Abb. 2 C).

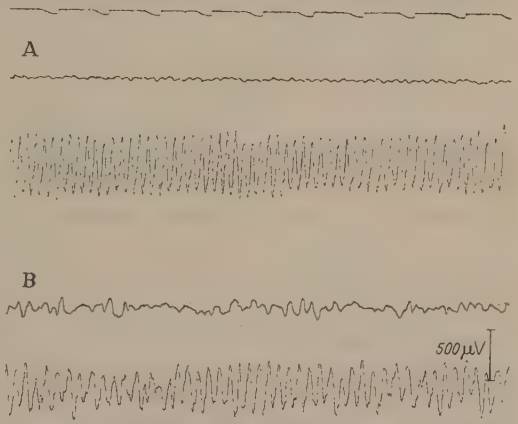


Abb. 3. Kaninchen-EEG, und zwar A: 4 min nach 0,5 mg/kg Physostigmin, B: 7 min nach zusätzlicher Verabreichung von 10 mg/kg Largactil. Ableitungen wie in Abb. 1

III. Largactil

10 mg/kg Largactil führten zu einer Frequenzverminderung der durch Physostigmin regularisierten Hippocampustätigkeit um 0,5—1 Hz. Diese Frequenzverringerung war somit geringer als unter der Wirkung von Evipan und Procain, erwies sich jedoch als statistisch signifikant ($P < 0{,}01$) und war in allen Versuchen konstant reproduzierbar. Sie war erst ca. 5 min nach der Largactil-Injektion voll ausgeprägt; eine Rückkehr zum Ausgangswert konnte infolge der langen Wirkungsdauer von Largactil niemals beobachtet werden. Cortical kam es gleichzeitig mit der Verlangsamung der Hippocampustätigkeit zu einer geringgradigen Amplitudenerhöhung und zum Auftreten von langsamen Potentialschwankungen ohne Spindeln.

In dem in Abb. 3 wiedergegebenen Versuch betrug die Hippocampusfrequenz nach der Physostigmin-Verabreichung 6 Hz (Abb. 3 A) und 7 min nach zusätzlicher Applikation von 10 mg/kg Largactil 5 Hz (Abb. 3 B). Die Veränderungen der corticalen Tätigkeit sind ebenfalls in Abb. 3 B deutlich zu erkennen.

Auch unter der Wirkung von Physostigmin + Largactil waren die Tiere gegenüber verschiedenen äußeren Reizen sehr empfindlich: bereits schwächste Reize führten zu einer kurzen, aber eindeutigen Steigerung der Hippocampusfrequenz.

IV. Scopolamin

0,1 mg/kg Scopolamin beeinflußte das Physostigmin-EEG meist nicht eindeutig. 0,15—0,2 mg/kg Scopolamin bewirkten in drei Versuchen eine deutliche Herabsetzung der Frequenz der Hippocampustätigkeit und parallel damit auch eine Frequenzabnahme des corticalen Grundrhythmus. Wurde die Scopolamin-Dosis nur geringfügig erhöht (etwa durch zusätzliche Verabreichung von 0,1 mg/kg), so war daraufhin die Hippocampustätigkeit völlig desynchronisiert und cortical traten hohe, langsame Potentialschwankungen mit einer schwachen Spindeltätigkeit auf. In einem Versuch wurden solche EEG-Veränderungen bereits nach 0,2 mg/kg Scopolamin beobachtet. Wir hatten jedenfalls den Eindruck, daß eine Herabsetzung der Frequenz der durch Physostigmin regularisierten Hippocampustätigkeit nur dann gelingt, wenn Scopolamin in einer Dosis verabreicht wird, die innerhalb eines bestimmten, eng begrenzten Dosenbereiches liegt. Infolge der langen Wirkungsdauer von Scopolamin konnte auch hier wieder ein Abklingen der Wirkung nicht beobachtet werden.

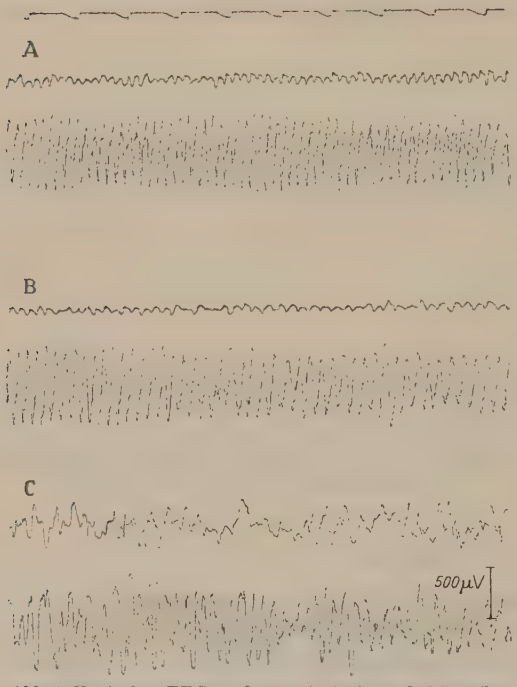


Abb. 4. Kaninchen-EEG, und zwar A: 4 min nach 0,5 mg/kg Physostigmin, B: 5 min nach zusätzlicher Verabreichung von 0,15 mg/kg Scopolamin, C: 5 min nach zusätzlicher Verabreichung von 0,1 mg/kg Scopolamin. Ableitungen wie in Abb. 1

Abb. 4 zeigt einen Versuch, bei dem die Frequenz der durch Physostigmin regularisierten Hippocampustätigkeit von 6 Hz (Abb. 4 A) durch Verabreichung von 0,15 mg/kg Scopolamin auf durchschnittlich 4,9 Hz (Abb. 4 B) herabgesetzt werden konnte. Nach zusätzlicher

Verabreichung von 0,1 mg/kg Scopolamin wurde die Hippocampustätigkeit unregelmäßig (Abb. 4 C).

0,1 mg/kg Scopolamin ist, wie wir in anderen Versuchen in Übereinstimmung mit Longo (1956) feststellen konnten, beim Kaninchen imstande, die "arousal reaction" auf schwache Reize weitgehend zu blockieren. An den mit Physostigmin vorbehandelten Tieren trat jedoch selbst nach Verabreichung von Scopolamin-Dosen, die die Physostigmin-Wirkung auf die Hippocampustätigkeit aufheben (0,2—0,3 mg/kg Scopolamin), auf schwache äußere Reize und gelegentlich auch spontan eine deutliche Regularisierung der Hippocampustätigkeit in Erscheinung. In gleicher Weise wie bei den Evipan- und Largactil-Versuchen konnte somit Physostigmin auch die blockierende Wirkung von Scopolamin auf die "arousal reaction" weitgehend abschwächen.

Diskussion

Untersuchungen über Wechselwirkungen zwischen Physostigmin einerseits und verschiedenen antagonistisch wirkenden Substanzen andrerseits auf das EEG wurden vor allem von Funderburk u. Case, sowie von Bradley u. Mitarb. (Bradley; Bradley u. Elkes (1953, 1957); Bradley u. Hance; Elkes, Elkes u. Bradley) durchgeführt. Diese Autoren geben an, daß (1) unter dem Einfluß von Physostigmin die typische Barbiturat-Spindeltätigkeit durch eine kontinuierliche rhythmische Aktivität ersetzt wird, (2) Largactil (2—4 mg/kg) nicht imstande ist, die durch Physostigmin (0,1—0,4 mg/kg) verursachte corticale Desynchronisierung aufzuheben und (3) Atropin bzw. l-Hyoscyamin in entsprechender Dosierung zu einer Aufhebung der Physostigmin-Wirkung auf das EEG führt. Nach Bovet u. Longo sind die Wechselwirkungen zwischen Atropin bzw. Scopolamin einerseits und den cholinergen, cortical desynchronisierend wirkenden Substanzen andererseits „reziprok und reversibel".

Alle diese Befunde konnten wir — soweit sie die corticale Tätigkeit betreffen — im wesentlichen bestätigen. Die im Vergleich zu Atropin (Bradley u. Elkes) wesentlich stärkere Wirkung von Scopolamin auf die Physostigmin-Wirkung stimmt gut mit der von Longo (1956) beobachteten Tatsache überein, daß Scopolamin die "arousal reaction" bereits in 10—15mal kleineren Dosen zu blockieren vermag als Atropin.

Wir konnten feststellen, daß unter dem Einfluß von Physostigmin die Empfindlichkeit der mit Evipan, Largactil und Scopolamin behandelten Tiere gegenüber schwachen äußeren Reizen erhöht wird. Für die Kombination Physostigmin und Atropin wurde diese Erscheinung auch von Bradley u. Elkes (1957) beschrieben. Diese Tatsache wird verständlich, wenn man annimmt, daß der Funktion des aszendierenden retikulären Aktivierungssystems ein cholinerger Mechanismus zugrunde liegt (Longo; Rinaldi u. Himwich; Sailer u. Stumpf).

In früheren Untersuchungen (Sailer u. Stumpf 1957a) hatten wir beobachten können, daß zwischen der Intensität eines Reizes und der

Frequenz der durch diesen Reiz ausgelösten rhinencephalen "arousal reaction" eine positive Korrelation besteht. Außerdem war gefunden worden (Brücke, Sailer u. Stumpf), daß die initiale Frequenz dieser rhinencephalen "arousal reaction" durch Evipan, Procain und Largactil herabgesetzt wird, durch Scopolamin hingegen unbeeinflußt bleibt; alle genannten Pharmaka hatten die rhinencephale "arousal reaction", ebenso wie die corticale, abgekürzt. Da zwischen der Physostigmin-Wirkung und der Wirkung verschiedener Reize auf die Hippocampustätigkeit weitgehende Ähnlichkeiten bestehen (Sailer u. Stumpf), war zu erwarten, daß Evipan, Procain, Largactil und Scopolamin auf die durch Physostigmin ausgelöste Regularisierung der Hippocampustätigkeit ebenfalls ähnlich wirken wie auf die rhinencephale "arousal reaction". Für Evipan, Procain und Largactil traf diese Erwartung nicht nur in qualitativer, sondern auch in quantitativer Beziehung zu: diese drei Substanzen senkten die Frequenz der durch Physostigmin regularisierten Hippocampustätigkeit und ebenso wie in unseren früheren Untersuchungen (Brücke, Sailer u. Stumpf) war auch in den hier mitgeteilten Versuchen Largactil in dieser Beziehung schwächer wirksam als Evipan und Procain. Während jedoch Scopolamin die initiale Frequenz der durch retikuläre Reizung ausgelösten rhinencephalen "arousal reaction" trotz Verkürzung dieser Reaktion unbeeinflußt ließ, konnten wir nun eine eindeutige Frequenzherabsetzung der durch Physostigmin regularisierten Hippocampustätigkeit beobachten. In unveröffentlichten Untersuchungen konnte außerdem gefunden werden, daß die initiale Frequenz der durch eine retikuläre Reizung bestimmter Intensität ausgelösten rhinencephalen "arousal reaction" weder durch Physostigmin, noch durch Scopolamin, noch durch eine Kombination beider Pharmaka modifiziert wird. Unsere Untersuchungen haben somit ergeben, daß Substanzen, deren gemeinsame Eigenschaft eine hemmende Wirkung auf die "arousal reaction" ist, die aber ansonsten sowohl chemisch als auch pharmakologisch den verschiedensten Gruppen angehören, die Frequenz der durch Physostigmin regularisierten Hippocampustätigkeit herabsetzen; und zwar unabhängig davon, ob diese Substanzen die initiale Hippocampusfrequenz der rhinencephalen "arousal reaction" beeinflussen oder nicht.

In hohen Dosen bewirkten Evipan, Largactil und Scopolamin eine Desynchronisierung der durch Physostigmin regularisierten Hippocampustätigkeit. In früheren Untersuchungen (Sailer u. Stumpf, 1957a) war festgestellt worden, daß der Hippocampus des Kaninchens eine regelmäßige Tätigkeit unter 4—4,5 Hz nicht aufrecht erhalten kann. Wird daher unter der Wirkung der genannten Substanzen die Hippocampusfrequenz auf bzw. unter den erwähnten kritischen Wert gesenkt, so muß eine Desynchronisierung der Hippocampustätigkeit in

Erscheinung treten. Procain bewirkte zum Unterschied davon in einigen Versuchen schon in einer Dosierung von 10 mg/kg, in anderen Versuchen erst nach höheren Dosen, initial eine Steigerung der Hippocampusfrequenz auf 8—9 Hz. Man wird daher für Procain eine zweite Wirkungskomponente annehmen müssen. In diesem Zusammenhang ist von Interesse, daß nach Monnier Cocain, in gleicher Weise wie etwa d-Amphetamin, im EEG zu einem "arousal pattern" führt.

Zusammenfassung

Physostigmin (0,5 mg/kg i.v.) löst beim wachen, nicht curarisierten Kaninchen im dorsalen Rhinencephalon eine hohe und äußerst regelmäßige Tätigkeit mit einer Frequenz um 6 Hz aus. Es wurde nun die Beeinflussung dieser Tätigkeit durch Pharmaka untersucht, deren gemeinsame Eigenschaft eine hemmende Wirkung auf die "arousal reaction" ist, nämlich Evipan, Procain, Largactil und Scopolamin. In entsprechender Dosierung führten alle vier Substanzen zu einer Herabsetzung der Frequenz der durch Physostigmin regularisierten Hippocampustätigkeit.

Literatur

Bovet, D., et V. G. Longo: XXth Int. Physiol. Congr., Brüssel, 1956, Abstr. p. 306.
Bradley, P. B.: Electroencephalogr. Clin. Neurophysiol., Suppl. **3**, 21 (1952).
Bradley, P. B., and J. Elkes: J. of Physiol. **120**, 14 P (1953). — Brain **80**, 77 (1957).
Bradley, P. B., and A. J. Hance: J. of Physiol. **129**, 50 P (1956).
Brücke, F., S. Sailer u. Ch. Stumpf: Arch. exper. Path. u. Pharmakol., **231**, 267 (1957).
Elkes, J., C. Elkes and P. B. Bradley: J. Ment. Sci. **100**, 125 (1954).
Funderburk, W. H., and T. J. Case: Electroencephalogr. Clin. Neurophysiol. **3**, 213 (1951).
Gangloff, H., and M. Monnier: Electroencephalogr. Clin. Neurophysiol. 8, 623 (1956). — Helvet. physiol. Acta **15**, 83 (1957).
Green, J. D., and A. Arduini: XIXth Int. Physiol. Congr., Montreal, 1953. — J. of Neurophysiol. **17**, 533 (1954).
Jung, R., u. A. E. Kornmüller: Arch. f. Psychiatr. **109**, 1 (1939).
Longo, V. G.: Experientia (Basel) **11**, 76 (1955). — J. of Pharmacol. **116**, 198 (1956).
Monnier, M.: Internat. Symp. on psychotropic drugs, Mailand, 1957.
Monnier, M., u. H. Laue: Helvet. physiol. Acta **11**, 73 (1953).
Moruzzi, G., and H. W. Magoun: Electroencephalogr. Clin. Neurophysiol. **1**, 455 (1949).
Passouant, P., J. Cadilhac et Th. Passouant-Fontaine: J. de Physiol. **47**, 715 (1955).
Passouant, P., Th. Passouant-Fontaine et J. Cadilhac: C. r. Soc. Biol. (Paris) **149**, 164 (1955).
Rinaldi, F., and H. E. Himwich: A. M. A. Arch. Neurol. Psychiat. **73**, 387 und 396 (1955).
Sailer, S., u. Ch. Stumpf: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **231**, 63 (1957a). — 23. Tagung d. Deutsch. Pharmakol. Ges., Freiburg, 1957 (b).

Professor Dr. F. Brücke,
Pharmakol. Inst. d. Univ. Wien IX/71, Österreich, Währingerstr. 13a

Arch. exper. Path. u. Pharmakol., Bd. 232, S. 442—458 (1958)

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Kiel
(Direktor: Prof. Dr. B. Behrens)

Die Bulbocapnin-Katatonie, ihre Synergisten und Antagonisten

Von
Gerhard Zetler und Eckard Moog*

Mit 1 Textabbildung

(Eingegangen am 5. Juli 1957)

Schon bei der ersten Untersuchung der pharmakologischen Eigenschaften von Corydalis-Alkaloiden durch Peters (1904) wurde die auffallende Wirkung von Bulbocapnin auf das motorische Verhalten der Versuchstiere beobachtet. Diese besteht darin, daß die Tiere zwar wach bleiben, aber in einen Zustand der Bewegungslosigkeit fallen, währenddessen sie abnorme Haltungen ertragen und sogar die klassische Flexibilitas cerea zeigen können. Diese Wirkung des Bulbocapnins wurde von den späteren Untersuchern Katalepsie, Katatonie und katatonischer Stupor genannt. In den letzten Jahrzehnten hat sich der Ausdruck „Bulbocapnin-Katatonie" eingebürgert, den auch wir benutzen wollen. Wir möchten jedoch betonen, daß es sich hierbei um einen pharmakologischen Terminus handelt, der mit dem psychiatrischen Begriff „Katatonie" nicht identisch ist.

Diese Erscheinung ist von erheblichem neurologischen und pharmakologischen Interesse, weil sie eine große Ähnlichkeit mit den klinischen Bildern der Katalepsie, der Akinesie oder des akinetisch-rigiden Syndroms zeigt (de Jong u. Baruk 1930; Schaltenbrand 1924; Krisch u. Spiegel 1929). Da bei manchen Tieren nach Bulbocapnin auch ein starker Ruhe-Tremor auftreten kann (Schaltenbrand 1924, 1940; Richter u. Paterson 1931; Brücke 1935; Kotljarevskij 1951), wird die Wirkung dieses Alkaloids dem Parkinsonschen Syndrom ähnlich (Pappalardo 1951). Darüber hinaus ruft Bulbocapnin noch eine große Zahl anderer Effekte hervor, die Brücke (1935) umfassend dargestellt hat. Abgesehen von den dort erwähnten Autoren haben sich seitdem Ingram u. Ranson (1934), Brücke (1936), Voss (1940), Hara (1953), Kawamori (1954) sowie Feldberg u. Sherwood (1955) mit der Frage des Angriffspunktes dieses Alkaloids im Zentralnervensystem beschäftigt. Letztere Autoren fanden, daß nach intraventrikulärer Injektion bei Katzen Bulbocapnin ebenso wie Eserin, Diisopropylfluorophosphat und Acetylcholin (Feldberg u. Sherwood 1954) Stupor und Katatonie hervorruft, daß aber allein Bulbocapnin diese Effekte auch nach subcutaner Verabreichung auslösen kann.

Man muß heute annehmen, daß Bulbocapnin das extrapyramidale System beeinflußt, daß dabei eine Einwirkung auf die Hirnrinde beteiligt ist, daß aber die charakteristische Bulbocapnin-Wirkung auf das motorische Verhalten durch einen Angriff an subcorticalen Zentren des

* Herr Moog wird unsere Ergebnisse ausführlich in seiner Dissertation darstellen.

Mittelhirns zustande kommt; schon Brücke (1935) vertrat diese Ansicht. Nach Brücke (1936) — dort weitere Literatur — ist während der Bulbocapnin-Katatonie die Reflexerregbarkeit für exteroceptive Reize vermehrt und der Muskeltonus reflektorisch gesteigert. In diesem Zusammenhang scheint es wesentlich zu sein, daß Bulbocapnin in Dosen von 5—20 mg/kg zwar die oben beschriebene „beruhigende" Wirkung zeigt, je nach Tierart jedoch in mehr oder weniger hohen Dosen hyperkinetische Erscheinungen und schließlich Krämpfe hervorruft, die denen nach Strychnin ähnlich sind.

Wir wollten untersuchen, ob und wie sich die typischen Bulbocapnin-Wirkungen durch andere Pharmaka beeinflussen lassen, weil wir beobachtet hatten, daß das Polypeptid Substanz P die Wirksamkeit dieses Alkaloids verstärkt (Zetler 1956a, b), ohne daß wir auf Grund der Angaben der Literatur diese Erscheinung hätten deuten können. Wegen ähnlicher Schwierigkeiten bei der Deutung der Wirksamkeit von Substanz P gegen den Harmin-Tremor haben wir bereits etwa 40 Substanzen auf ihre Wirkung gegen diesen Harmin-Effekt untersucht (Zetler 1957). Diese Substanzen wollten wir nun gegen die Bulbocapnin-Katatonie ausprobieren. Davon abgesehen schien uns eine solche Untersuchung auch von allgemeinem pharmakologischen Interesse zu sein, da der Harmin-Tremor und die Bulbocapnin-Katatonie die bei der Parkinsonschen Krankheit auftretenden motorischen Erscheinungen teilweise nachzuahmen scheinen. An Hand einer solchen Untersuchung könnte man vielleicht ex juvantibus erkennen, ob die beim Tier zu beobachtenden Bulbocapnin-Wirkungen als Modell für die entsprechenden Erscheinungen des Parkinsonismus aufgefaßt werden können und ob sie sich zur pharmakologischen Beurteilung von Parkinson-Mitteln eignen.

Folgende Substanzen erwiesen sich bisher als Antagonisten mittlerer Bulbocapnin-Dosen: Kohlensäure (Kaufman u. Spiegel 1930), Ephedrin (Bancroft u. Rutzler jr. 1931), Cocain (Evrard u. Spiegel 1932; Buchman u. Richter 1933), Benzedrin (Spiegel 1938) und Tetrahydro-β-naphthylamin (Kerman, zitiert nach Sollmann 1949), ferner die mit Bulbocapnin chemisch eng verwandten Substanzen Morphin und Apomorphin (Divry u. Evrard, zitiert nach Brücke 1935). Gegen Bulbocapnin unwirksam waren Coffein, Adrenalin und Mescalin (Katzenelbogen u. Meehan 1933) sowie Myanesin (Davis, Hine, Neal, Christensen u. Murphy 1952).

Methodik

Die Versuchstiere waren männliche Mäuse im Gewicht von 20—27 g. In Anlehnung an die von Pulewka (1950) beschriebene Methode zur Auswertung von Extrakten aus Cannabis indica setzten wir die Mäuse in die Mitte eines vertikalen Stabes, der 60 cm lang, 1,2 cm dick und mit 0,1 cm dickem Bindfaden umwickelt war. Eine normale Maus läuft an diesem Stabe entweder sofort oder wenige Sekunden nach dem Ansetzen auf und ab, die Bulbocapnin-Maus dagegen sitzt ruhig am Stabe und zeigt nicht selten ungewöhnliche Haltungen, die von normalen Tieren auf keinen Fall ertragen werden. Nach der Injektion von Bulbocapnin wurden die Mäuse alle 5 min vertikal an den Stab angesetzt und 50 sec lang beobachtet. Wenn eine

Maus in einem ununterbrochenen Zeitraum von 30 sec keine Laufbewegungen machte, so galt dies als positives Resultat; geringfügige Haltungsänderungen werteten wir nicht als Fortbewegung.

Da nicht selten in eine Serie positiver Resultate einige negative Resultate eingestreut sind, verwerteten wir als Maß der Bulbocapnin-Wirkung die Anzahl der positiven Resultate, die nach der Injektion des Alkaloids registriert wurden. Multipliziert man die Anzahl der positiven Resultate mit 5, so erhält man die ungefähre Dauer der Bulbocapnin-Katatonie in Minuten.

Bei diesem Vorgehen war bei den meisten Tieren schon 5 min nach der Injektion, spätestens aber nach 10—15 min, die Bulbocapnin-Wirkung vorhanden. Dieses Verhalten zeigte keine Abhängigkeit von der Dosis des Alkaloids, jedenfalls nicht in unserem Dosierungsbereich. Deshalb verzichteten wir auf die Verwertung dieses uncharakteristischen Stadiums und begannen mit der Beobachtung der Tiere in der 20. min nach der Injektion. Diese Beobachtung wurde 60 min lang durchgeführt, also nach der 80. min des Versuches abgebrochen. Wie die Tab. 1 zeigt, liefert unser Verfahren eindeutige Beziehungen zwischen Dosis und Wirkung. Um sicher zu sein, daß die von uns gegen Bulbocapnin geprüften Pharmaka nicht etwa die Resorption des Alkaloids beeinflussen, injizierten wir sie intraperitoneal 10 min nach der subcutanen Bulbocapnin-Gabe, als der katatone Zustand bereits vorhanden war. Die intraperitoneale Gabe dieser Pharmaka war auch deshalb nötig, weil wir sie zunächst in Dosen geben wollten, die in unseren Versuchen am Harmin-Tremor bei intraperitonealer Injektion äquipotent gewesen waren (ED_{50}).

Die Körpertemperatur der Versuchstiere wurde mit einem 20 mm tief in das Rectum eingeführten Thermo-Element gemessen. Die Raumtemperatur war immer 22—23° C.

Statistik: Die ED_{50} wurde nach Behrens u. Schlosser (1957) berechnet. Auch hier danken wir Frl. Dr. Lucie Schlosser für die Durchführung der Berechnungen. Die in Tab. 1 wiedergegebene Analyse verdanken wir Frl. Inger Hedemark/Kopenhagen. Beim Vergleich zweier Mittelwerte berücksichtigten wir die t-Funktion. Wir nahmen an, daß kein signifikanter Unterschied zwischen zwei Mittelwerten besteht, wenn $p > 0{,}05$ ist. Der in den Tabellen angegebene Wert ε ist der mittlere Fehler des Mittelwertes.

Ergebnisse

Bei unserem oben geschilderten Verfahren der Messung der Bulbocapnin-Wirkung werden die Mäuse 60 min lang beobachtet und während dieser Zeit 13mal an den Stab angesetzt.

Tab. 1 zeigt, daß mit dieser Methode die Wirkungen des Bulbocapnins auf die Motorik der Maus objektiv und quantitativ gemessen werden können. Die mittlere Anzahl der positiven Resultate wird in dem untersuchten Dosenbereich von der Dosis bestimmt, die resultierende Kurve verläuft linear. Der Mittelwert nach 50 mg/kg Bulbocapnin unterscheidet sich signifikant von dem nach 70 und 30 mg/kg. Wir benutzten deshalb zunächst als Standard-Dosis von Bulbocapnin 50 mg/kg, weil zu erwarten war, daß antagonistische und synergistische Wirkungen anderer Pharmaka gegenüber dieser Dosis zu erkennen sein würden. Zur Kontrolle gaben wir bei 10 Mäusen statt eines Pharmakons 0,01 ml/g NaCl-Lösung intraperitoneal; bei diesem Versuch war der Mittelwert der Bulbocapnin-Wirkung $8{,}7 \pm 0{,}98$.

Tabelle 1. *Beziehungen zwischen der Bulbocapnin-Dosis und der mittleren Anzahl positiver Resultate.* Beobachtung von der 20. bis zur 80. min nach der subcutanen Bulbocapnin-Injektion

Ergebnisse					
Bulbocapnin-Dosis mg/kg	30	40	50	55	70
Anzahl der Tiere	10	10	10	10	10
Mittel	4,1	5,3	7,5	8,5	10,9
$\pm \varepsilon$	0,85	0,96	1,07	0,58	0,5

Varianz-Analyse

Variabilität		Freiheitsgrade	Summe der Quadrate	Varianz	F
Total	N—1	49	579,6		
Innerhalb der Gruppen . .	N—k	45	292,9	6,5	1
Zwischen den Gruppen . .	k—1	4	286,7	71,7	11,0*
Lineare Regression	1	1	276,4	276,4	42,5*
Abweichungen von der linearen Regression . .	k—2	3	10,3	3,4	0,523**

* Hoch signifikant. ** Nicht signifikant.
Streuung der einzelnen Beobachtung = 2,514
Regressionsgleichung: $Y = 18{,}6\,X - 23{,}8$; X = log Dosis
Index der Präzision (λ) = 2,514/18,6 = 0,135

Zu unserer Überraschung erwies sich der größte Teil der gegen den Harmin-Tremor der Maus wirksamen Pharmaka (Zetler 1957) gegen 50 mg/kg Bulbocapnin als wirkungslos. Es handelte sich dabei um folgende Substanzen (in Klammern führen wir die intraperitoneal verabreichten Dosen — mg/kg — an, die der jeweiligen ED_{50} gegen Harmin entsprechen):

Apomorphin (1,8), Atropin (28,3), Scopolamin (17), Belladonnin (27), Artane (Benzhexol) (12,4), Parpanit (Caramiphen) (15)*), Pagitane (Cycrimin) (15,5), Akineton (10,5)*), Soventol (14,3), Trasentin (Adiphenin) (25)*), Brocades XCIXa (Harms 1956) (26,4)*), Covatin (11,5), N-90 (2-(p-Cyclohexylmercapto-benzhydrylmercapto)-N,N-dimethyl-äthylamin, Weidmann u. Petersen 1953) (5)*), Myanesin (Mephenesin) (32,5)*), Myocain (Guajakolglyceryläther) (34), Atosil (Promethazin) (1,2), Padisal (Thiazinamium) (6), Dibutil (Äthopropazin) (6,5)*), Latibon (Diäthazin) (23), Diphenylhydantoin (Phenytoin) (8), Lysergsäurediäthylamid (LSD) (0,43), 5-Oxytryptamin (Serotonin) (0,9*), Tryptamin (13,8), Indol (21) und Urethan (116)*). Alle diese Substanzen wirkten weder synergistisch noch antagonistisch. Die mit einem Stern versehenen Pharmaka schienen die Wirksamkeit von 50 mg/kg Bulbocapnin zu verstärken (nicht signifikant). Wir gaben sie deshalb in weiteren Versuchen in jeweils doppelter Dosis bei 30 mg/kg Bulbocapnin (NaCl-Kontrollwert: $3{,}9 \pm 0{,}76$); jedoch auch unter diesen Bedingungen ergaben sich keine signifikanten Änderungen. Latibon schien die Bulbocapnin-Wirkung abzuschwächen, was sich bei einer Verdoppelung der Latibon-Dosis nicht erhärten ließ. Es ist natürlich möglich, daß einige dieser Pharmaka bei höheren Dosen doch wirksam sind; wir wollten jedoch den Dosierungsbereich unserer Harmin-Versuche nicht wesentlich überschreiten.

Da nach Divry u. Evrard (zitiert nach Brücke 1935) Apomorphin und Morphin antagonistisch gegenüber Bulbocapnin wirken, untersuchten wir auch Morphin. 20 mg/kg intraperitoneal dieses Alkaloids beeinflußte die Wirkung von 30 und 50 mg/kg Bulbocapnin nicht signifikant; allerdings war eine synergistische Tendenz angedeutet. Nach dieser hohen Morphin-Gabe war außer dem Straubschen Schwanz-Phänomen kein Zeichen zentraler Erregung bei den Mäusen zu erkennen.

Harmin (10 und 20 mg/kg intraperitoneal) beeinflußte die Bulbocapnin-Katatonie nicht. Diese Harmin-Dosis ist erheblich. Nach unseren Erfahrungen bewirken bei Mäusen bereits 7 mg/kg Harmin subcutan einen starken Tremor, der 30 min lang dauert (Zetler 1956a, b; 1957).

Tabelle 2. *Wirkung von Reserpin, Megaphen (Chlorpromazin) und Hydergin auf die Wirksamkeit zweier Bulbocapnin-Dosen.* Die Anzahl der Versuchstiere beträgt in jeder Gruppe 10, bei dem Versuch mit NaCl-Lösung und 30 mg/kg Bulbocapnin 20 Tiere. p bezieht sich auf den Vergleich des zugehörigen Mittelwertes mit dem der jeweiligen Bulbocapnin-Dosis entsprechenden NaCl-Wert

Pharmakon	Bulbocapnin-Dosis mg/kg subcutan	Pharmakon-Dosis mg/kg intraperitoneal	Mittlere Anzahl positiver Resultate	$\pm \varepsilon$	p
NaCl-Lösung . .	30	—	3,9	0,76	
	50	—	8,7	0,98	
Reserpin	30	5,2	11,1	0,69	$< 0{,}001$
	50	2,6	11,7	0,51	$< 0{,}05$
Megaphen	30	2,4	9,7	1,18	$< 0{,}001$
	50	1,2	11,9	0,81	$> 0{,}05$
Hydergin	30	18,0	7,1	0,99	$< 0{,}02$
	50	9,6	10,9	1,17	$> 0{,}05$

Aus Tab. 2 geht hervor, daß die Versuche mit der verminderten Bulbocapnin- und erhöhten Pharmakon-Dosis berechtigt waren. Auf diese Weise ließ sich erkennen, daß Megaphen und Hydergin die Bulbocapnin-Wirksamkeit verstärken. Bei 50 mg/kg Bulbocapnin bewirkte nur nur Reserpin bereits eine signifikante Verstärkung der Katatonie. In Kontroll-Versuchen erhielten je 10 Mäuse intraperitoneal 5,2 mg/kg Reserpin, 2,4 mg/kg Megaphen und 18 mg/kg Hydergin, jedoch kein Bulbocapnin sondern nur NaCl-Lösung. Dabei zeigten Hydergin und Megaphen keinerlei katatone Wirksamkeit (Mittelwerte 1,0 und 0,4), Reserpin jedoch war mit einem Mittelwert von $4{,}9 \pm 1{,}05$ schon mindestens so wirksam wie Bulbocapnin (30 mg/kg). Die Katatonie trat

jedoch nicht sofort, sondern nach einer Latenz-Zeit von 55,0 ± 6,1 min schlagartig in voller Stärke auf (10 Tiere); solche Latenz-Perioden scheinen für die zentrale Wirkung von Reserpin typisch zu sein (Bein 1953; Schneider, Plummer, Earl u. Gaunt 1955). Die synergistische Wirkung von Reserpin könnte demnach auf additive Weise zustande kommen. Bei Megaphen und Hydergin in dieser Dosierung kommt dies jedoch nicht in Frage, hier liegt vielmehr eine echte Verstärkung der Wirksamkeit von Bulbocapnin vor.

Die mit Bulbocapnin synergistische Wirkung der in Tab. 2 aufgeführten Substanzen wird vielleicht durch folgende Beobachtung besonders unterstrichen: Die ED_{50} von Chloralhydrat gegen den Harmin-Tremor war 152 mg/kg intraperitoneal (Zetler 1957). Bei dieser Dosis des Narkoticums ist das Verhalten der Mäuse noch fast völlig normal, pränarkotische Symptome werden erst bei etwa 200 mg/kg deutlich. Bei der Kombination von 152 mg/kg Chloralhydrat mit 50 mg/kg Bulbocapnin trat bei allen Tieren eine tiefe Narkose ein, weshalb der eigentliche Versuch an der Stange nicht durchgeführt werden konnte. Durch die gleiche Chloralhydrat-Dosis wurde jedoch die Wirkung von 30 mg/kg Bulbocapnin nicht verstärkt. Bei der Kombination von Urethan in der dem Chloralhydrat am Harmin-Tremor äquipotenten Dosis (116 mg/kg) mit Bulbocapnin trat keine Narkose ein, die Katatonie wurde nicht verstärkt, auch nach 232 mg/kg Urethan änderte sich die Wirksamkeit von 30 mg/kg Bulbocapnin nicht. Eine Verstärkung der Schlafmittel-Wirkung ist bereits von Brücke (1935) beobachtet worden.

Von allen Pharmaka, die wir früher als wirksam gegen den Harmin-Tremor gefunden hatten, konnten — soweit wir sie diesmal untersuchten — nur Benadryl (Diphenhydramin) und die Benadryl-Derivate Disipal (Mephenamin) und Rigidyl die Wirksamkeit von Bulbocapnin vermindern.

Die auf eine antagonistische Wirkung zu untersuchenden Substanzen wurden nunmehr gegen eine Bulbocapnin-Dosis von 50 mg/kg auf folgende Weise geprüft. Bei jeweils 10 Mäusen wurde nach verschiedenen Dosen des Antagonisten festgestellt, wieviele der Tiere Katatonie zeigten bzw. nicht reagierten. Alle Tiere, die bei dem Ansetzen an die Stange während der 60 min langen Beobachtung nur 3 mal oder seltener in Ruhe verharrten, wurden als „negativ" gewertet. Aus den so erhaltenen Prozentzahlen wurde dann die Dosis des Antagonisten bestimmt, bei der gerade 50% Tiere positiv bzw. negativ reagierten. Aus früheren Versuchen war uns bekannt, daß 50 mg/kg Bulbocapnin, wenn statt eines Antagonisten NaCl-Lösung gegeben wurde, ungefähr die Dosis darstellt, bei der dem oben beschriebenen Vorgehen alle Tiere mit Katatonie reagierten. Bei 30 mg/kg Bulbocapnin waren von 20 Tieren 7, also 35% negativ.

Daß dieses Vorgehen zu brauchbaren Ergebnissen führt, zeigt die Abb. 1. Werden mit verschiedenen Ephedrin-Dosen bei vorhergehender Verabfolgung von 50 mg/kg Bulbocapnin Versuche durchgeführt in der Weise, wie sie weiter vorne Seite 444 beschrieben ist, so läßt sich aus den so gewonnenen Zahlen, wenn das Resultat, das man bei Bulbocapnin und NaCl-Lösung erhalten hat, gleich 100% gesetzt wird, eine Kurve der Wirkungsabschwächung durch die jeweilige Ephedrin-Dosis errechnen (Kurve *B*). Werden dieselben Ergebnisse so ausgewertet wie

eben angegeben, so erhält man die Werte, die durch die Kurve *A* dargestellt sind. Die Übereinstimmung ist für den geplanten Zweck befriedigend.

Die Ergebnisse dieser Versuche sind in Tab. 3 dargestellt. Es ist überraschend, daß Benadryl, Disipal und Rigidyl als Bulbocapnin-Antagonisten etwa dieselben ED_{50}-Werte haben wie als Harmin-Antagonisten. Damit unterscheiden sich diese Pharmaka sehr auffallend von allen anderen von uns untersuchten Parkinson-Mitteln. Die so starke Wirksamkeit von Benzedrin (Amphetamin) ist besonders deshalb bemerkenswert, weil sie die antagonistische Wirkung der so viel weniger zentral erregenden Parkinson-Mittel unterstreicht. Mescalin, Cocain und Scopolamin waren keine echten Antagonisten, obwohl nach 15 mg/kg Mescalin sowie nach 10, 20 und 40 mg/kg Cocain die Wirkung von 50 mg/kg Bulbocapnin signifikant vermindert war (bei Bewertung der Original-Resultate).

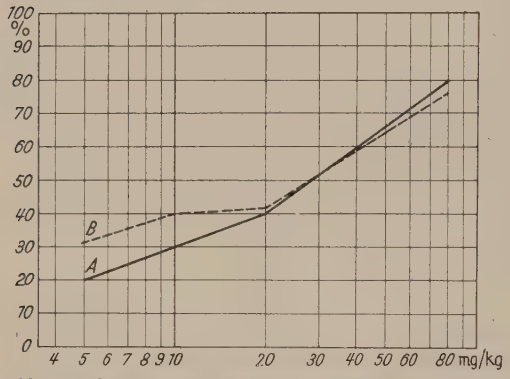


Abb. 1. Einfluß der intraperitonealen Injektion verschiedener Dosen von Ephedrin (siehe Tab. 3) auf die Wirkung von 50 mg/kg Bulbocapnin subcutan bei Mäusen. Abszisse: Ephedrin-Dosen in mg/kg (je 10 Mäuse). Kurve *A* Prozentsatz der Tiere, die gegen die Bulbocapninwirkung geschützt sind. Kurve *B* Abnahme der mittleren Anzahl von positiven Resultaten in Prozent der Norm

Sager (1932) hatte bei Katzen und Brücke (1935) bei Kaninchen gefunden, daß nach Bulbocapnin die Körper-Temperatur sinkt. Deshalb beobachteten auch wir in unseren Versuchen das Verhalten der Körper-Temperatur, die wir rectal vor Beginn des Versuches und am Ende der Beobachtungsperiode, also immer 80 min nach der Bulbocapnin-Injektion, feststellten. Wurde statt eines Pharmakons NaCl-Lösung verabreicht, so sank die Temperatur nach 30 mg/kg Bulbocapnin um durchschnittlich $1{,}25 \pm 0{,}17°$ C und nach 50 mg/kg um durchschnittlich $3{,}46 \pm 0{,}44°$ C. Diejenigen Substanzen, die die Katatonie nicht beeinflußten, änderten auch die Temperatur-Abnahme nach Bulbocapnin nicht signifikant. Unter den in Tab. 3 aufgeführten, gegen Bulbocapnin antagonistisch wirkenden Substanzen verhinderten nur Benzedrin und Ephedrin die Temperatur-Abnahme nach Bulbocapnin und zwar nur bei Dosen, die über 50% der Tiere vor der Bulbocapnin-Katatonie schützten. Nach den Pharmaka Reserpin, Megaphen und Hydergin, die als Synergisten von Bulbocapnin wirkten (Tab. 2), war die Abnahme der Körper-Temperatur stärker

Tabelle 3. *Ergebnisse der Versuche zur quantitativen Beurteilung von Pharmaka, die gegen Bulbocapnin antagonistisch wirken.* Soweit möglich, wurde jeweils auch die ED_{50} gegen den Harmin-Tremor (Zetler 1957) angegeben

Pharmakon	Dosis mg/kg i.p.	*n* geschützt / *n* insgesamt	ED_{50} mg/kg i.p.	Vertrauensgrenzen für $p = 0{,}05$	ED_{50} gegen den Harmin-Tremor mg/kg i.p.	Vertrauensgrenzen für $p = 0{,}05$
Benzedrin (Amphetamin)	1,0	3/10				
	2,5	4/10				
	5,0	5/10	3,63	1,88— 6,97		
	10,0	6/10				
	20,0	9/10				
Benadyl (Diphenhydramin)	3,15	2/10				
	6,3	5/10	6,25	4,19— 9,32	12,7	8,8 —18,18
	12,5	8/10				
Disipal (Mephenamin)	6,2	1/10				
	9,2	4/10	10,2	8,56—12,16	11,5	7,62—17,32
	12,3	7/10				
	15,2	8/10				
Rigidyl	10,0	1/10				
	15,0	3/10	20,25	16,01—25,61	20,0	
	20,0	5/10				
	30,0	7/10				
Ephedrin	5,0	2/10				
	10,0	3/10				
	20,0	4/10	22,97	13,73—38,45		
	40,0	6/10				
	80,0	8/10				
Mescalin	5,0	2/10				
	10,0	5/10				
	15,0	5/10				
	20,0	3/10				
	40,0	1/10				
Cocain	5,0	1/10				
	10,0	3/10				
	20,0	4/10				
	40,0	2/10				
Scopolamin	17,0	2/10				
	34,0	3/10			16,4	12,38—21,83
	68,0	3/10				
	200,0	1/10				

als nach 30 mg/kg Bulbocapnin allein (Tab. 4). In Kontroll-Versuchen fanden wir, daß die Temperatur nach Reserpin und Hydergin allein bereits erheblich absank, während sie nach Megaphen nicht signifikant vermindert war. Bei einem statistischen Vergleich der mittleren Temperatur-Änderung nach Reserpin, Megaphen und Hydergin ohne Bulbocapnin mit den entsprechenden Werten der Kombination mit

Bulbocapnin ergab sich, daß nur Megaphen die Temperatur-Senkung nach Bulbocapnin verstärkte. Die temperatursenkenden Wirkungen von Reserpin und Hydergin einerseits und von Bulbocapnin andererseits verstärkten sich gegenseitig nicht (was vielleicht bei Hydergin noch genauer zu prüfen wäre).

Da Bulbocapnin in mittleren Dosen Katatonie, in hohen Dosen klonisch-tonische Konvulsionen hervorruft, also phasisch wirkt (Brücke

Tabelle 4. *Einfluß von Megaphen (Chlorpromazin), Reserpin und Hydergin allein und in Kombination mit 30 mg/kg Bulbocapnin auf die Körper-Temperatur der Maus.* Die Temperatur-Differenz war nach 30 mg/kg Bulbocapnin subcutan + NaCl-Lösung intraperitoneal — 1,25 ± 0,17° C

Pharmakon intraperitoneal	10 min vorher subcutan	n	Mittlere Differenz der Körper-Temperatur °C	± s intra-individuell	p^*	p^{**}
Megaphen	NaCl-Lösung	10	—0,59	0,270	$> 0{,}05$	$< 0{,}05$
2,4 mg/kg	Bulbocapnin	10	—3,77	0,591	$< 0{,}01$	
Reserpin	NaCl-Lösung	10	—5,43	0,486	$< 0{,}001$	$> 0{,}7$
5,2 mg/kg	Bulbocapnin	10	—4,79	0,379	$< 0{,}001$	
Hydergin	NaCl-Lösung	10	—1,38	0,253	$< 0{,}001$	$> 0{,}1$
18 mg/kg	Bulbocapnin	10	—3,74	0,304	$< 0{,}001$	

* p bezieht sich auf die Bewertung der mittleren Temperatur-Differenz.
** p bezieht sich auf den Vergleich der beiden mittleren Temperatur-Differenzen mit und ohne Bulbocapnin.

1935), interessierte uns die Frage, wie die gegen den katatonen Effekt synergistisch oder antagonistisch wirkenden Substanzen die letale Wirkung hoher Bulbocapnin-Dosen beeinflussen. Wir fanden, daß nach subcutaner Injektion und bei 5stündiger Beobachtungszeit die DL_{50} für Bulbocapnin 146,4 mg/kg ist (Sicherheitsgrenzen für $p = 0{,}05$: 130,0 bis 164,8); Molitor (1936) hatte eine DL_{50} von 195 mg/kg gefunden. Wurden 15 min vor der subcutanen Gabe von 146 mg/kg Bulbocapnin intraperitoneal 7,2 mg/kg Benzedrin oder 12,5 mg/kg Benadryl gegeben, so starben in beiden Fällen 50% der Tiere. Diese gegen die Katatonie antagonistischen Substanzen hatten die Wirkung der DL_{50} von Bulbocapnin also nicht beeinflußt. Wurden 60 min vor Bulbocapnin 5,2 mg Reserpin injiziert, so starben 63%, nach 2,4 mg/kg Megaphen (15 min vorher) 75% der Tiere. Diese beiden, die Katatonie verstärkenden Pharmaka hatten also auch die letale Wirkung von Bulbocapnin synergistisch beeinflußt.

An auffallenden Nebenbeobachtungen ist das Straubsche Schwanz-Phänomen zu erwähnen, das besonders deutlich bei der Kombination von 30 und 50 mg/kg Bulbocapnin mit 20 mg/kg Morphin auftrat. Bei beiden Bulbocapnin-Dosen war das

Phänomen bei je 7 von 10 Tieren etwa gleich stark ausgeprägt, jedoch durchaus nicht während der gesamten Beobachtungszeit positiv. Das Straubsche Phänomen zeigte sich jedoch auch bei der Kombination von Benzedrin und Ephedrin mit 50 mg/kg Bulbocapnin, besonders bei den hohen Dosen.

Nach der Kombination von Benzedrin und Ephedrin mit Bulbocapnin trat bei den Mäusen Salivation auf, die oft so stark war, daß das Fell der Tiere bis zwischen die Vorderpfoten durchnäßt wurde. Nach 20 mg/kg Benzedrin zeigten alle Tiere diese Erscheinung, bei 40 mg/kg Ephedrin nur 10% und bei 80 mg/kg Ephedrin nur 30% der Tiere. Aus diesen quantitativen Beziehungen könnte man entnehmen, daß die zentral erregende Wirksamkeit von Benzedrin und Ephedrin für die Auslösung der Salivation nach Bulbocapnin von Bedeutung ist.

Recht auffallend, aber sehr selten zu sehen war ein grober Ruhe-Tremor, der nach 40 mg/kg Cocain bei 10% der Mäuse und nach 30 mg/kg Rigidyl bei 30% der Mäuse auftrat. Bei diesen 4 Tieren war die Wirkung von 50 mg/kg Bulbocapnin zwar noch vorhanden, aber bereits stark abgeschwächt; diese 4 Mäuse zeigten im Mittel etwa 4 positive Resultate, was der Wirksamkeit von 30 mg/kg Bulbocapnin entsprechen würde. Das Auftreten des Tremors könnte etwas mit der erregenden Wirkung dieser Rigidyl- und Cocain-Dosis zu tun haben; wenn dem so ist, dann ist das Fehlen eines Tremors nach der Kombination von Bulbocapnin mit Benzedrin und Ephedrin schwer zu erklären. — Weitaus der stärkste Tremor trat bei allen Tieren nach der Kombination von 50 mg/kg Bulbocapnin mit 10 und 20 mg/kg Harmin auf, wobei nach der höheren Harmin-Dosis der Tremor wesentlich stärker war und länger dauerte als nach der niedrigeren Dosis. Dies ist auffallend, da Bulbocapnin als Harmin-Antagonist stärker gegen den Tremor wirksam ist als z. B. die Parkinson-Mittel; die ED_{50} für die Wirkung von Bulbocapnin gegen den Tremor nach 7 mg/kg Harmin subcutan war 7 mg/kg intraperitoneal (Zetler 1957). Es erhebt sich bei diesem Befund die interessante Frage, ob die Harmin-antagonistische Wirksamkeit von Bulbocapnin durch die Erhöhung der Harmin-Dosis überwunden werden kann.

Diskussion

Nur Richter u. Paterson (1931) haben versucht, die Bulbocapnin-Wirkung quantitativ zu bestimmen. Sie arbeiteten mit Rhesus-Affen, bei denen sich nach Bulbocapnin ein Greif-Reflex einstellt, der normalerweise auch bei neugeborenen Tieren, nicht aber bei erwachsenen Affen vorhanden ist. Die Dauer des einarmigen Hängens an einer horizontalen Stange sowie die Wirkungsdauer des Bulbocapnins (im Abstand von 15 min getestet) zeigten eine Abhängigkeit von der verabreichten Dosis des Alkaloids. Ein analoges Vorgehen eignet sich nach Brücke (1935) nicht zur Beurteilung der Bulbocapnin-Wirkung bei der Maus, da hier der Greif-Reflex nicht auftritt.

Der von uns eingeschlagene Weg erlaubt es, bei der Maus die Wirkung von Bulbocapnin in ihrer Abhängigkeit von der Dosis zu messen und den Einfluß anderer zentral wirksamer Pharmaka auf die Bulbocapnin-Katatonie quantitativ zu bestimmen. Unter den untersuchten Substanzen befinden sich 28 zum Teil stark wirksame Antagonisten des Harmin-Tremors (Zetler 1957), von denen sich

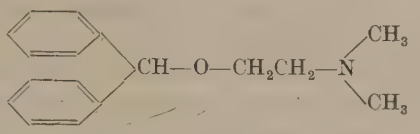
nur 3 als Bulbocapnin-Antagonisten erwiesen (Benadryl, Disipal und Rigidyl), während 3 andere Substanzen die Katatonie verstärkten (Reserpin, Megaphen und Hydergin). Es erhebt sich die Frage, warum der Harmin-Tremor von so vielen, die Bulbocapnin-Katatonie jedoch von nur so wenigen Pharmaka beeinflußt wird. Wir nehmen deshalb an, daß zum Auftreten des Harmin-Tremors ein Angriff des Harmins an mehren Stellen im Zentralnervensystem gleichzeitig nötig ist und daß an allen diesen Stellen antagonistische Einflüsse wirksam werden können. Im Gegensatz dazu müßte Bulbocapnin an wesentlich weniger Stellen, vielleicht nur an einer einzigen Stelle im Zentralnervensystem angreifen.

Im Gegensatz zu Divry u. Evrard (zitiert nach Brücke 1935) beobachteten wir keinen Antagonismus von Morphin und Apomorphin gegen Bulbocapnin. Da sich bei Fröhlich u. Zak (zitiert nach Brücke 1935) zur Ruhigstellung von Mäusen Bulbocapnin zusammen mit Morphin bewährte, kann bei Mäusen Morphin wohl kein Bulbocapnin-Antagonist sein. An Katzen hatten Evrard u. Spiegel (1932) festgestellt, daß Cocain in einer Dosierung von etwa 10 mg/kg die Katatonie erzeugende Wirkung von Bulbocapnin (20—25 mg/kg) durchbrechen kann. Unter unseren Bedingungen ließ sich jedoch für die antagonistische Wirksamkeit von Cocain keine ED_{50} bestimmen, da höhere Cocain-Dosen wieder weniger wirksam waren (Tab. 3). Ähnliches zeigte sich auch besonders deutlich bei Scopolamin und Mescalin. Mescalin hatte in den Versuchen von Katzenelbogen u. Meehan (1933) bei Katzen die Wirkung von 30 mg/kg Bulbocapnin nicht vermindert. Es ist merkwürdig, daß in unseren Versuchen Mescalin nicht Bulbocapnin-synergistisch, sondern in der Dosis 15 mg/kg signifikant antagonistisch wirkte, da diese Substanz selbst bei Mäusen und Katzen (de Jong 1932, 1945) sowie Hunden (Sturtevant u. Drill 1956) Katatonie und Katalepsie erzeugt.

Die Bulbocapnin-antagonistischen Wirkungen von Benzedrin, Benadryl, Disipal, Rigidyl und Ephedrin können wohl kaum auf einen einheitlichen Wirkungsmechanismus zurückgeführt werden. Zunächst wäre an die zentral erregende Komponente zu denken, da Ephedrin etwa fünfmal schwächer wirkte als Benzedrin; nach unseren Beobachtungen hat auch Rigidyl eine nicht geringe erregende Wirkung auf das Zentralnervensystem der Maus. Benadryl jedoch hat bei der Maus in den von uns intraperitoneal angewandten Dosen keine erregende, sondern eine sedative Wirkung (Weidmann u. Petersen 1953). Andererseits wirkten Substanzen, die das Zentralnervensystem der Maus erregen (Morphin, Scolopamin, Cocain, Atropin und Harmin), nicht gegen Bulbocapnin.

Kleine Unterschiede in der chemischen Konstitution der Substanzen sind von großer Bedeutung für die Wirksamkeit gegenüber Bulbocapnin. So bewirkt die ortho-Methylierung der Benzhydryl-Gruppe des Benadryl-Moleküls (Disipal) praktisch kaum einen Verlust an antagonistischer

Wirksamkeit, während der Ersatz der Dimethylamino-Gruppe des Benadryls durch eine Diäthylamino-Gruppe



Benadryl (Diphenhydramin)

(Rigidyl) zu einer Abschwächung der Wirksamkeit führt. Tritt an die Stelle der o-Methyl-Gruppe des Disipals eine tertiäre Butyl-Gruppe, so erhält man im Präparat Brocades XCIVa eine gegenüber Bulbocapnin (50 mg/kg) nicht mehr antagonistische, sondern synergistisch wirkende Substanz (dieser Synergismus fand sich jedoch nicht gegenüber 30 mg/kg Bulbocapnin, weshalb wir ihn oben nicht erwähnten). Die Einführung einer Butylmercapto-Gruppe in para-Stellung und der Ersatz des Sauerstoffs durch Schwefel liefert das in unseren Versuchen unwirksame Präparat Covatin.

Der Bulbocapnin-Synergismus von Reserpin, Megaphen und Hydergin ist schwer zu erklären. Zwar wirken diese drei Substanzen auf die normale Maus sedativ (Hydergin: Rothlin u. Cerletti 1952), sedativ wirkt aber auch das Bulbocapnin-antagonistische Benadryl (Weidmann u. Petersen 1953). Reserpin erzeugte in unseren Versuchen allein schon Katatonie; ähnliche Beobachtungen haben Bein, Gross, Tripod u. Meier (1953) bei Hunden und Katzen gemacht. Der Synergismus von Reserpin und Bulbocapnin könnte also auf einer Addition der Wirkungen beruhen. Da nach Hydergin und Megaphen allein keine Katatonie auftrat, handelt es sich bei dem Synergismus in diesen Fällen vielleicht um eine Potenzierung des Bulbocapnin-Effektes. Dieser Unterschied zwischen Reserpin und Megaphen ist wichtig, weil bei der psychiatrischen Therapie mit diesen beiden Pharmaka vollständige und unvollständige, aber reversible Parkinson-Syndrome beobachtet wurden, die sich auch bei Primaten herbeiführen ließen (Literatur bei Bein 1956). Die Fähigkeit dieser Pharmaka, „Parkinsonismus" zu erzeugen, geht also nicht mit der „Katatonie" erzeugenden Wirksamkeit bei der Maus Hand in Hand. Die pharmakologische Ähnlichkeit der Bulbocapnin-Katatonie mit gewissen Erscheinungen des Parkinson-Syndroms ist auch deshalb nur gering, weil die meisten von uns untersuchten Parkinson-Mittel keine Bulbocapnin-Antagonisten sind.

Diese Tatsache spricht gegen einen elektiven Angriff des Bulbocapnins am extrapyramidalen System. Mit Zuständen der Rigidität oder der Spastizität kann die Bulbocapnin-Katatonie nicht befriedigend verglichen werden, da gegen Bulbocapnin Pharmaka wirkungslos sind, die die Rigidität vermindern (Mephenesin bzw. Myanesin: Henneman u. Scherrer 1949; Parpanit: Gruber, Kraatz, Gruber jr. u. Copeland 1949; Apomorphin: Dordoni 1952; Megaphen: Henatsch u. Ingvar 1956).

Die Bulbocapnin-Katatonie erinnert in mancher Hinsicht an die kataleptischen oder akinetischen Erscheinungen, die bei menschlichen Psychosen auftreten können. So läßt sich nicht nur der katatone

Stupor bei Psychosen durch CO_2-Einatmung (Loevenhart, Lorenz u. Waters 1929), durch Cocain (Fleck 1924) oder schockähnliche Einwirkungen von außen (environmental stress) unterbrechen, sondern auch die Bulbocapnin-Katatonie (CO_2: Kaufman u. Spiegel 1930; Cocain: Buchman u. Richter 1933; Stress: Wagner jr. u. Woods 1950). Ferner bleibt wie bei katatonen Patienten auch bei Affen, Katzen und Ratten während der Bulbocapnin-Katatonie der sensorische Rapport mit der Umwelt erhalten (Wagner jr. 1950).

Im Gegensatz zu Benzedrin und Ephedrin (vielleicht auch Rigidyl) beeinflußten 6 andere Stoffe, die das Zentralnervensystem der Maus ebenfalls erregen, die Bulbocapnin-Katatonie entweder nicht oder wie

Tabelle 5

Pharmakon	Wirkung auf das Zentralnervensystem		Wirkung gegenüber Bulbocapnin
	Mensch	Maus	Maus
Lysergsäurediäthylamid	H	Stim	∅
Harmin	H	Stim	∅
Mescalin	H	K	∅
Morphin	(H)	Stim	∅
Atropin	(H)	Stim	∅
Scopolamin	(H)	Stim	∅
Cocain	H	Stim	(Ant)
Substanz P	?	Sed	Syn
Reserpin	AH	Sed	Syn
Megaphen	AH	Sed	Syn
Hydergin	?	Sed	Syn
Benadryl	AH	Sed	Ant
Benzedrin	Stim	Stim	Ant
Ephedrin	Stim	Stim	Ant

H: Halluzinogen. Stim: Zentral stimulierend.
(H): Bedingt halluzinogen. K: Katatonie erzeugend.
AH: Anti-halluzinogen. Sed: Sedativ.
∅: Ohne Wirkung gegenüber der Bulbocapnin-Katatonie.
Syn: Synergistisch mit Bulbocapnin.
Ant: Antagonistisch gegenüber Bulbocapnin.
(Ant): Beschränkt antagonistisch gegenüber Bulbocapnin.

Cocain nur wenig (Tab. 5). Von ihnen sind aber 3 echte und 3 bedingte Halluzinogene. Mescalin — gleichfalls ein Halluzinogen — wirkt zwar auf das Zentralnervensystem der Maus nicht erregend, aber es erzeugt selbst Katatonie (de Jong 1932; Sturtevant u. Drill 1956), auch Morphin ruft „katatonische Rigidität" hervor (Sollmann 1949). Auch unter den Bulbocapnin-Antagonisten und -Synergisten der Tab. 5 befinden sich psychoaktive Substanzen; davon wirken 3 Pharmaka antipsychotisch

und antihalluzinogen, nämlich Reserpin, Megaphen und Benadryl. Während in unseren Versuchen Reserpin und Megaphen die Bulbocapnin-Katatonie verstärkten, beseitigten sie in den Experimenten von Sturtevant u. Drill (1956) bei Hunden und Katzen die Mescalin-Katatonie.

Die Wirkung des Bulbocapnins auf die Körpertemperatur war kaum zu beeinflussen. Ephedrin und Benzedrin, die einzigen Pharmaka, die diese Hypothermie verhinderten, erzeugen nach Haas (1939) sowie Kiessig (1941) bei Versuchstieren Fieber. Trotzdem genügt diese hypertermische Wirksamkeit nicht zur Erklärung der Wirkung von Ephedrin und Benzedrin bei unseren Versuchen; denn Harmin, das bei Mäusen einen abrupten Temperatur-Anstieg hervorruft (Zetler 1957), beeinflußte die Temperatur-Senkung ebensowenig wie das hyperthermisch wirkende Cocain. Warum von den die Katatonie verstärkenden Pharmaka Megaphen, Reserpin und Hydergin nur Megaphen die Bulbocapnin-Hypothermie verstärkt, können wir nicht erklären.

Die hier dargestellten Versuche waren ebenso sowie unsere Experimente über die pharmakologische Beeinflußbarkeit des Harmin-Tremors (Zetler 1957) durchgeführt worden, um unsere Beobachtung der Harmin-antagonistischen und Bulbocapnin-synergistischen Wirkung des Polypeptids *Substanz* P (Zetler 19456a, b) deuten zu können. Wir können jetzt sagen, daß Substanz P zu den wenigen Substanzen gehört, die den Harmin-Tremor antagonistisch und die Bulbocapnin-Katatonie synergistisch beeinflussen. *Damit wirkt Substanz P im gleichen Sinne wie Reserpin, Hydergin und Megaphen (Chlorpromazin).*

Zusammenfassung

Die „Katatonie" erzeugende Wirkung von Bulbocapnin auf die Maus wurde quantitativ untersucht.

Von 38 Substanzen beeinflußten Benzedrin (Amphetamin), Benadryl (Diphenhydramin), Disipal (Mephenamin), Rigidyl, Ephedrin und in geringerem Maße Cocain diese Bulbocapnin-Wirkung antagonistisch, während Megaphen (Chlorpromazin), Hydergin und Reserpin synergistisch wirkten.

Bulbocapnin senkte bei der Maus die Körpertemperatur. Dieser Effekt wurde nur durch Benzedrin (Amphetamin) und Ephedrin aufgehoben, durch Megaphen (Chlorpromazin) verstärkt.

Literatur

Bancroft, W. D., and J. E. Rutzler jr.: Reversible coagulation in living tissue, VIII. Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A. **17**, 575 (1931).

Behrens, B., u. L. Schlosser: Beitrag zur Bestimmung der LD_{50} und der Berechnung ihrer Fehlerbreite. Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **230**, 59 (1957).

Bein, H. J.: Zur Pharmakologie des Reserpin, eines neuen Alkaloids aus Rauwolfia serpentina Benth. Experientia (Basel) **9**, 107 (1953).

Bein, H. J.: The pharmacology of Rauwolfia. Pharmacol. Rev. **8**, 435 (1956).

Bein, H. J., F. Gross, J. Tripod and R. Meier: Experimentelle Untersuchungen über „Serpasil" (Reserpin), ein neues, sehr wirksames Rauwolfiaalkaloid mit neuartiger zentraler Wirkung. Schweiz. med. Wschr. **1953**, 1007.

Bijlsma, U. G., A. F. Harms, A. B. H. Funcke, H. M. Tersteege and W. Th. Nauta: The pharmacology of β-dimethylaminoethyl-2-methylbenzhydrylether hydrochloride (BS 5930). Arch. internat. Pharmacodynamie **109**, 332 (1956).

Brücke, F. Th.: Beiträge zur Pharmakologie des Bulbocapnins. Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **179**, 504 (1935).

Brücke, F. Th. v.: Das Wesen der Bulbocapninstarre. Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **182**, 325 (1936).

Buchman, E. F., and C. P. Richter: Abolition of Bulbocapnine catatonia by Cocaine. Arch. of Neur. **29**, 479 (1933).

Davis, H., C. H. Hine, M. W. Neal, H. E. Christensen and F. J. Murphy: Some pharmacologic comparisons of 1-ethoxy, 3-isopropoxypropane-2-ol and 3,-(2′-methylphenoxy) propane-1,2-diol (Myanesin). Arch. internat. Pharmacodynamie **89**, 145 (1952).

de Jong, M.: Die experimentelle Katatonie als vielfach vorkommende Reaktionsform des Zentralnervensystems. Z. Neur. **139**, 468 (1932).

de Jong, H., et H. Baruk: La catatonie expérimentale par la bulbocapnine. Paris 1930.

Dordoni, F.: Ulteriori contributi alla farmacologia del tono muscolare. Rapporti tra azione ipotonizzante e azione emetica. Arch. It. Sc. Farmacol. **2**, 240 (1952).

Evrard, E., u. E. A. Spiegel: Durchbrechung der Bulbocapnin-Katalepsie durch Cocain. Z. Neur. **138**, 197 (1932).

Feldberg, W., and S. L. Sherwood: Behaviour of cats after intraventricular injections of eserine and DFP. J. of Physiol. **125**, 488 (1954).

Feldberg, W., and S. L. Sherwood: Injections of bulbocapnine into the cerebral ventricle of cats. Brit. J. Pharmacol. **10**, 371 (1955).

Fleck, U.: Über Cocainwirkung bei Stuporösen. Z. Neur. **92**, 84 (1924).

Gruber, C. M., C. P. Kraatz, C. M. Gruber jr. and J. E. Copeland: The effect of diethylaminoethyl ester of 1-phenyl-cyclopentane-1-carboxylic acid hydrochloride, „Parpanit", on decerebrate rigidity, spinal reflexes and skeletal muscle. J. Pharmacol. a. Exper. Ther. **96**, 11 (1949).

Haas, H. T. A.: Ascorbinsäure und Fieber. Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **192**, 331 (1939).

Hara, S.: Pharmacological studies on the function of the extrapyramidal system. Report No. 1. Jap. J. Pharmacol. **2**, 127 (1953).

Harms, A. F.: Synthesis and pharmacological properties of a series of substituted dimethylaminoethyl benzhydryl ethers. Acad. Thesis, Amsterdam 1956.

Henatsch, H.-D., u. D. H. Ingvar: Chlorpromazin und Spastizität. Eine experimentelle elektrophysiologische Untersuchung. Arch. f. Psychiatr. u. Z. Neur. **195**, 77 (1956).

Henneman, E., and J. Scherrer: The effect of α,β-dihydroxy-γ-(2-methylphenoxy)-propane (Myanesine, Tolserol) on experimental spasticity in cats. J. Pharmacol. a. Exper. Ther. **97**, 324 (1949).

Ingram, W. R., and S. W. Ranson: Bulbocapnine. Effect on animals with lesions of the central nervous system. Arch. of Neur. **31**, 987 (1934).

Katzenelbogen, S., and M. C. Meehan: The chemistry of the blood and the cerebrospinal fluid, with special reference to calcium, in the cataleptoid state induced by bulbocapnine. The combined effect of bulbocapnine and some other drugs. J. Pharmacol. a. Exper. Ther. **47**, 131 (1933).

Kaufman, R., u. E. A. Spiegel: Experimentelle Analyse der Beeinflussung katatoner Zustände durch Einatmen von Kohlensäure-Sauerstoffmischungen. Z. Neur. **127**, 312 (1930).

Kawamori, K.: Pharmacological studies on the function of the extrapyramidal system. Report I. Significance of corpus striatum in the presence of extrapyramidal poisons. Fol. Pharmacol. Jap. (Breviaria) **50**, 17 (1954).

Kiessig, H. J.: Untersuchungen über die Wirkungsweise der Sympathicomimetica. VII. Über die temperatursteigernde Wirkung einiger Sympathicomimetica. Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **197**, 384 (1941).

Kotljarevskij, L. J.: Die Störungen der höheren Nerventätigkeit bei der Bulbocapnin-Vergiftung von Tieren. Z. vyssej. Nerv. **1**, 579 (1951).Referat: Zbl. Neur. **120**, 275 (1952).

Krisch, H., u. E. A. Spiegel: Sichtbarmachung latenter, experimentell hervorgerufener Tonusstörungen mit Bulbocapnin. Z. Neur. **122**, 535 (1929).

Loevenhart, A. S., W. F. Lorenz and R. M. Waters: Cerebral stimulation. J. Amer. Med. Assoc. **92**, 880 (1929).

Molitor, H.: The use of bulbocapnine in pre-anaesthetic medication. J. Pharmacol. a. Exper. Ther. **56**, 85 (1936).

Pappalardo, P.: Manifestazioni sopravestibolari nella tossicosi sperimentale bulbocapninica. Raffronti con la catatonia umana e con il parkinsonismo postencefalitico. Acta neurol. (Napoli) **6**, 257 (1951).

Paterson, A. S., and C. P. Richter: Action of scopolamine and carbon dioxide on catalepsy produced by bulbocapnine. Arch. of Neur. **29**, 231 (1933).

Peters, F.: Pharmakologische Untersuchungen über Corydalisalkaloide. Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **51**, **130** (1904).

Pulewka, P.: Über die relative Wirksamkeit türkischer Hanfpflanzen. Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **211**, 278 (1950).

Richter, C. P., and A. S. Paterson: Bulbocapnine catalepsy and the grasp reflex. J. Pharmacol. a. Exper. Ther. **43**, 677 (1931).

Rothlin, E., u. A. Cerletti: Über einige pharmakologische Untersuchungen an Mäusen mit congenitaler Drehsucht. Helvet. physiol. Acta **10**, 319 (1952).

Sager, O.: Experimentelle Untersuchungen über die Bulbocapninstarre (zugleich ein Beitrag zum Mechanismus der Katalepsie). Z. exper. Med. **81**, 543 (1932).

Schaltenbrand, G.: Über die Bewegungsstörungen bei akuter Bulbocapninvergiftung. Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **103**, 1 (1924).

Schaltenbrand, G.: Erzeugung extrapyramidaler Bewegungsstörungen durch Bulbocapnin beim Affen. Hochschulfilm der Reichsstelle für den Unterrichtsfilm. Nr. B 385 (1940).

Schneider, J. A., A. J. Plummer, A. E. Earl and R. Gaunt: Neuropharmacological aspects of reserpine. Ann. New York Acad. Sci. **61**, 17 (1955).

Sollmann, T.: A manual of pharmacology and its applications to therapeutics and toxicology. Philadelphia u. London 1949.

Spiegel, E.: Bulbocapnine — benzedrine antagonism. J. Pharmacol. a. Exper. Ther. **63**, 438 (1938).

Sturtevant, F. M., and V. A. Drill: Effects of mescaline in laboratory animals and influence of ataraxics on mescaline-response. Proc. Soc. Exper. Biol. a. Med. **92** 383 (1956).

Voss, J. N.: Über das Verhalten halbseitig großhirnloser Tiere unter Bulbocapnin in mittleren Gaben. Pflügers Arch. **243**, 496 (1940).

Wagner jr., H. N.: Objective testing of vision with the use of the galvanic skin response. Arch. of Ophthalm. **43**, 529 (1950).

Wagner jr., H. N., and J. W. Woods: Interruption of bulbocapnine catalepsy in rats by environment stress. Arch. of Neur. **64**, 720 (1950).

Weidmann, H., and P. V. Petersen: A new group of potent sedatives. J. Pharmacol. a. Exper. Ther. **108**, 201 (1953).

Zetler, G.: Substanz P, ein Polypeptid aus Darm und Gehirn mit depressiven, hyperalgetischen und Morphin-antagonistischen Wirkungen auf das Zentralnervensystem. Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **228**, 513 (1956a).

Zetler, G.: Wirkungsunterschied zwischen den Polypeptiden Bradykinin und Substanz P am Zentralnervensystem. Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **229**, 148 (1956b).

Zetler, G.: Der Harmin-Tremor und seine Antagonisten. Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **231**, 34 (1957).

Dozent Dr. G. Zetler, Kiel,
Pharmakologisches Institut der Universität, Hospitalstr. 20

Arch. exper. Path. u. Pharmakol., Bd. 232, S. 459—469 (1958)

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität (Leiter: Prof. Dr. L. Lendle) und der Physiologischen Abteilung der Medizinischen Forschungsanstalt (Leiter: Prof. Dr. W. Schoedel) der Max-Planck-Gesellschaft, Göttingen

Untersuchungen über das Verhalten des Kreislaufes, der Atmung und der Sauerstoffsättigung des Blutes bei Cyanidvergiftung

Von

H. Mercker, W. Lochner und E. Gerstenberg

Mit 4 Textabbildungen

(Eingegangen am 4. August 1957)

Bei der Cyanidvergiftung kommt es durch Blockade der Cytochromoxydase zu einer histotoxischen Anoxie und dadurch zu Funktionsstörungen der einzelnen Organe, besonders des Zentralnervensystems. Es besteht die Frage, ob durch Störungen von Atmung und Kreislauf der Vergiftungsverlauf zusätzlich ungünstig beeinflußt wird. So wird von Paulet dem Versagen des Kreislaufes, das im Vergiftungsverlauf (bei gleichmäßiger i.v. Zufuhr von Cyanid) früher auftreten soll als das Versagen der Atmung, eine besondere Bedeutung zugeschrieben.

Es erschien uns sinnvoll, zur Abklärung dieser Fragen insbesondere das Verhalten der arteriellen und venösen Sauerstoffsättigungen des Blutes zu untersuchen. Die arterielle Sättigung ist ein Kriterium für die Ventilation, während die venöse Sättigung Hinweise für das Ausmaß der Cyanidschädigung gibt. Bei vollständiger Blockade des aeroben Stoffwechsels dürfte eine arterio-venöse Sauerstoffdifferenz am einzelnen Organ bzw. am gesamten Organismus (venöses Mischblut) nicht mehr vorhanden sein.

Auch der zeitliche Gang im Verhalten der Sauerstoffsättigung des venösen Blutes der einzelnen Organe kann Aufschlüsse über den Ablauf der Vergiftung in den Organen geben. Unter diesem Gesichtspunkt haben wir neben der Sauerstoffsättigung des venösen Mischblutes auch die des venösen Coronarblutes untersucht.

Um den Vergiftungsablauf allgemein beurteilen zu können, wurde in den Versuchen außerdem der arterielle Blutdruck registriert und die Atemfrequenz gezählt. Aus der Blutdruckregistrierung wurde die Herzfrequenz durch Auszählen ermittelt. In einem Teil der Versuche wurde auch das Herzzeitvolumen bestimmt. Ferner konnten Befunde erhoben

werden, die das Verhalten der arteriellen Milchsäurekonzentration im Lauf der Vergiftung und die arterio-venöse Milchsäuredifferenz des Herzens betreffen.

Methodik

Die Versuche wurden an 15 Hunden in Morphin-Chloralose-Urethan-Narkose durchgeführt (Morphin 0,01 mg/kg s.c.; Chloralose 80 mg/kg und Urethan 250 mg/kg, die beiden letzteren i.m.). Cyanid wurde durch eine i.v. Dauerinfusion einer KCN-Lösung gegeben (KCN pro analysi „Merck"). Die KCN-Dosierung betrug in allen Versuchen 0,08 mg/kg/min (0,032 mg CN^-/kg/min). Diese Cyaniddosis wurde in allen Versuchen in 0,58 cm^3 0,9% NaCl-Lösung infundiert. Der Blutdruck wurde mit einem straingage-Manometer (Statham) registriert. Die Pulsfrequenz wurde aus der Blutdruckregistrierung ermittelt. Die Atemfrequenz wurde gezählt.

Für die Bestimmungen der Sauerstoffsättigungen im Blut wurden für die erforderlichen Blutentnahmen eine Kanüle in eine A. fem. eingebunden und ein Katheter unter Röntgenkontrolle in die A. pulmonalis sowie den Coronarsinus eingeführt. Die Sauerstoffsättigung wurde außerdem entweder im venösen Mischblut oder im Coronarsinusblut mit der früher von uns (Lochner, Mercker u. Schürmeyer) beschriebenen Anordnung fortlaufend gemessen. Das Blut wurde mit einer geeigneten Pumpe gleichmäßig durch ein Oxymeter gesaugt und reinfundiert. Zur spektrophotometrischen Bestimmung der Absolutwerte der Sauerstoffsättigung wurden in Abständen von 3—4 min Blutproben (arterielles Blut, venöses Mischblut und Coronarsinusblut) entnommen. Es wurde darauf geachtet, daß aus dem Coronarsinus die Entnahme langsam erfolgte, damit nicht rückläufig venöses Mischblut beigemischt wurde. Die Entnahme von 2 cm^3 erfolgte in etwa 20 sec. Wir benutzten zur Bestimmung der Sauerstoffsättigung die Methode von Nahas unter Berücksichtigung einiger Abänderungen nach Pijper. Die relativen Änderungen des Herzzeitvolumens wurden mit der Injektionsmethode durch Blutverdünnung bestimmt (Lochner u. dal Ri). Die Milchsäure wurde in den ersten Versuchen nach Barker u. Summerson bestimmt, in den späteren Versuchen benutzten wir eine fermentative Methode in Anlehnung an Pfleiderer u. Dose.

Ergebnisse

Bei der KCN-Dosierung von 0,08 mg/kg/min (entsprechend 0,032 mg CN^-/kg/min) ergab sich bei 15 Hunden eine mittlere Überlebensdauer von 28 $\pm$ 1,2 min. Die Extremwerte betrugen 22 und 36 min.

Aus insgesamt 10 Versuchen konnte das Verhalten von Blutdruck, Atemfrequenz und Herzfrequenz gleichzeitig ermittelt werden (s. Abb. 1). In 5 Versuchen wurden diese Größen und gleichzeitig die Sauerstoffsättigungen im arteriellen Blut, venösen Mischblut und Coronarsinusblut gemessen (Abb. 2). Da in den einzelnen Versuchen die Dauer der Infusion (Überlebenszeit) unterschiedlich war, wurde die Auswertung und Mittelung der Versuchsergebnisse folgendermaßen vorgenommen: Die Dauer des einzelnen Versuchs wurde in Zehntel eingeteilt (Zeiten $t_1, t_2, \ldots, t_{10}$). Die diesen Zeitpunkten entsprechenden Meßwerte, die teilweise durch Interpolation ermittelt wurden, wurden dann zur Mittelwertsbildung verwendet.

Damit wurden gewissermaßen die Wirkungen „äquieffektiver" Teildosen miteinander verglichen.

Über den Verlauf der Cyanidvergiftung ergab sich folgendes Bild. Der *mittlere arterielle Blutdruck* blieb für lange Zeit unverändert. Die Blutdruckamplitude wurde größer, wenn es im späteren Verlauf zu

einer ausgeprägten Bradykardie kam. Das Ende der Vergiftung ging mit einem plötzlich einsetzenden Blutdruckabfall einher. Die *Pulsfrequenz* stieg im Beginn der Vergiftung an. Es ist anzunehmen, daß dieser Effekt auf eine Stimulierung der Chemoreceptoren und deren

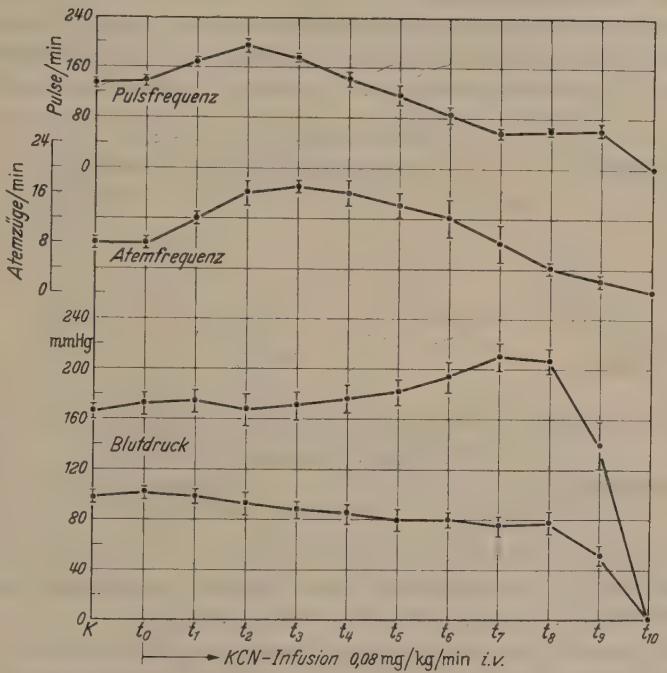


Abb. 1. Pulsfrequenz, Atemfrequenz und syst. u. diast. Blutdruck. Mittelwerte mit mittlerem Fehler der Mittelwerte aus 10 Versuchen. Abszisse = Zeit. Die Versuchsdauer (Überlebenszeit bei CN-Infusion) wurde in jedem Versuch in Zehntel eingeteilt. Die diesen Zeitpunkten entsprechenden Werte, die teilweise durch Interpolation ermittelt wurden, wurden zur Mittelwertsbildung verwandt. *K* = Ausgangswerte vor Beginn der Cyanidinfusion

Einfluß auf die zentrale Kreislaufregulation zurückzuführen ist. Im späteren Verlauf kam es zu einer Bradykardie.

Das *Herzzeitvolumen* (bestimmt in 4 Versuchen) blieb (ebenso wie der mittlere arterielle Blutdruck) zunächst praktisch unverändert und fiel erst in der Phase des Kreislaufkollapses ab. Es kam also zunächst nicht zu einer deutlichen Verminderung des peripheren Strömungswiderstandes. Diese wäre auf Grund der histotoxischen Anoxie durch das Cyanid zu erwarten. Möglicherweise wurde sie durch die Chemoreceptorenwirkung auf den Kreislauf verhindert.

Die *Atemfrequenz* stieg auf etwa das Doppelte an. Diese Erregung der Atmung beruht im Anfang der Vergiftung sicher auf der Chemoreceptorenwirkung des Cyanids. In späteren Stadien können zentrale

Wirkungen durch p_H-Änderungen des Blutes ursächlich in Betracht kommen. Im weiteren Verlauf sank dann die Atemfrequenz ab (s. Abb. 1).

Die *Sauerstoffsättigungen des arteriellen Blutes*, des venösen Mischblutes und des Coronarsinusblutes sind in der Abb. 2 dargestellt. Die *arterielle Sättigung* betrug vor der CN-Infusion 90 ± 2%. Sie stieg mit Beginn der Cyanidwirkung als Folge der gesteigerten Lungenventilation auf 98—99% an und fiel auch gegen Ende des Versuches nur wenig ab.

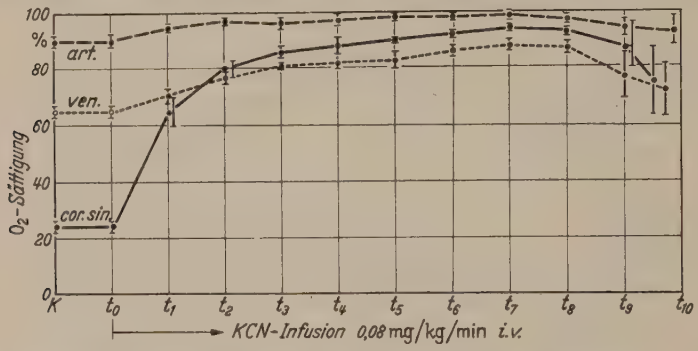


Abb. 2. Sauerstoffsättigungen im arteriellen Blut (= art.), im venösen Mischblut (= ven.) und im Coronarsinusblut (= Cor. Sin.), Abszisse = Zeit (vgl. Abb. 1)

Dieses zeigt, daß auch die Atemdepression gegen Versuchsende nicht zu einer wesentlichen Untersättigung führte. Das ist verständlich, da die Sauerstoffaufnahme in diesem Stadium vermindert war.

Die *Sättigung des gemischten venösen Blutes* betrug 65 ± 2 Sätt.% vor Beginn der Infusion. Sie stieg im Vergiftungsverlauf allmählich auf maximal 88 Sätt.% an. Die arteriovenöse Sauerstoffdifferenz, ausgedrückt in Sättigungsprozenten, wurde also nur von 25 Sätt.% maximal auf etwa 10 Sätt.% erniedrigt. Als Mittelwert von 15 Messungen der Gruppen t_6, t_7 und t_8 zusammen ergibt sich 11 ± 1,0 AVD O_2-Sätt.%. Es kam also unter der Cyanidwirkung nicht zu einer vollständigen Arterialisierung des venösen Mischblutes. Am Ende der Vergiftung konnte sogar ein Wiederzunehmen der AVD O_2-Sätt.% eintreten. Aus unserem Versuchsmaterial ergab sich als Mittelwert für die AVD O_2 (venöses Mischblut) bei Versuchsende (kurz vor t_{10}) ein Wert von 20 ± 5 Sätt.%.

Im *Coronarsinusblut* fanden wir als Ausgangswert eine Sättigung von 24 ± 2%. Dieser Wert stimmt gut mit den früher von uns aus der Literatur zusammengestellten Werten überein (Lochner, Mercker u. Schürmeyer). Unter der Cyanidwirkung kam es im Coronarsinusblut zu einem wesentlich schnelleren Anstieg der Sauerstoffsättigung als im venösen Mischblut. Der Hauptteil des Anstieges erfolgte in den ersten 3 min nach Beginn der Infusion. Nach 10 min Infusionsdauer wurden Werte erreicht,

die nahe denen der arteriellen Sättigungen liegen. Im Mittel fand sich für die Zeiten t_6, t_7 und t_8 (15 Werte) eine AVD O_2-Sätt.% von 4,5 $\pm$ 0,7. Sowohl quantitativ wie auch im zeitlichen Gang verhielt sich also die Sättigung des Coronarsinusblutes anders als die des venösen Mischblutes. Am Ende des Versuches konnte jedoch auch hier die AVD O_2-Sätt.% nochmals zunehmen. Im Mittel errechnete sich am Versuchsende eine AVD O_2 (Cor. Sinus) von 18,4 $\pm$ 7,3 Sätt.% (5 Messungen). Die starke Zunahme der Sättigung des Coronarsinusblutes in den ersten Minuten nach Beginn der Infusion war sicherlich mit durch eine Zunahme

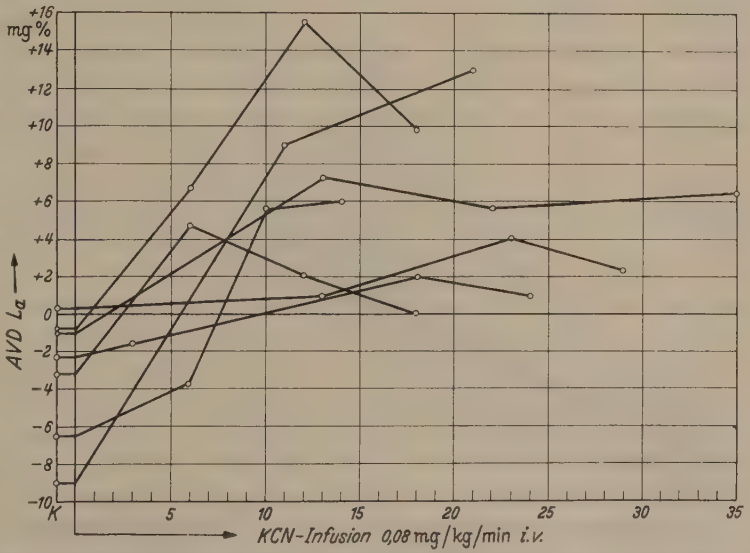


Abb. 3. Arterio-venöse Milchsäuredifferenz am Herzmuskel in mg% = AVD La (Ordinate) vor und während KCN-Infusion. Arterielles Blut und Coronarsinusblut. Negatives Vorzeichen = Milchsäureaufnahme. Positives Vorzeichen = Milchsäureabgabe. Abszisse = Zeit in Minuten K = Ausgangswerte vor Beginn der KCN-Infusion (Mittelwerte aus 2 Bestimmungen). Messungen in 7 Versuchen

der Coronardurchblutung bedingt. Es ist sehr unwahrscheinlich, daß bereits in so kurzer Zeit eine weitgehende Blockade des oxydativen Stoffwechsels eingetreten war.

Statistische Auswertung der Werte für AVD O_2 (art.-ven. Mischblut und art. Coronarsinusblut): Es wurde jeweils der Mittelwert der Gruppe t_{10} (5 Mess.) verglichen mit dem Mittelwert aus den Gruppen t_6, t_7 und t_8 zusammen. Die Streuung der Differenz der Mittelwerte wurde nach Pätau berechnet. Der t-Test ergab dann für die Zunahme der AVD-O_2 in der Gruppe t_{10} gegenüber dem Mittelwert der Gruppe t_6, t_7 und t_8 für das venöse Mischblut ein $P = 0{,}01$, für das Coronarsinusblut ein $P = 0{,}005$.

Um weitere Anhaltspunkte für das Verhalten des Stoffwechsels, insbesondere der Glykolyse, während der CN-Vergiftung zu gewinnen, haben wir das Verhalten des Milchsäurespiegels im arteriellen Blut sowie

die *arterio-venöse Milchsäuredifferenz (AVD La) am Herzen* untersucht. Die AVD La ist normalerweise negativ, d. h. die Milchsäure wird vom Herzmuskel aufgenommen und verbraucht. Aus 12 Messungen an 7 Hunden fanden wir einen Mittelwert von $-3{,}9 \pm 1{,}0$ mg-%. Die Extraktion betrug $25{,}4 \pm 4{,}6\%$ der arteriellen Milchsäurekonzentration. Während der Cyanidinfusionen wurde zu verschiedenen Zeiten die AVD La am Herzen bestimmt (insgesamt 20 Messungen an 7 Hunden). Die Ergebnisse

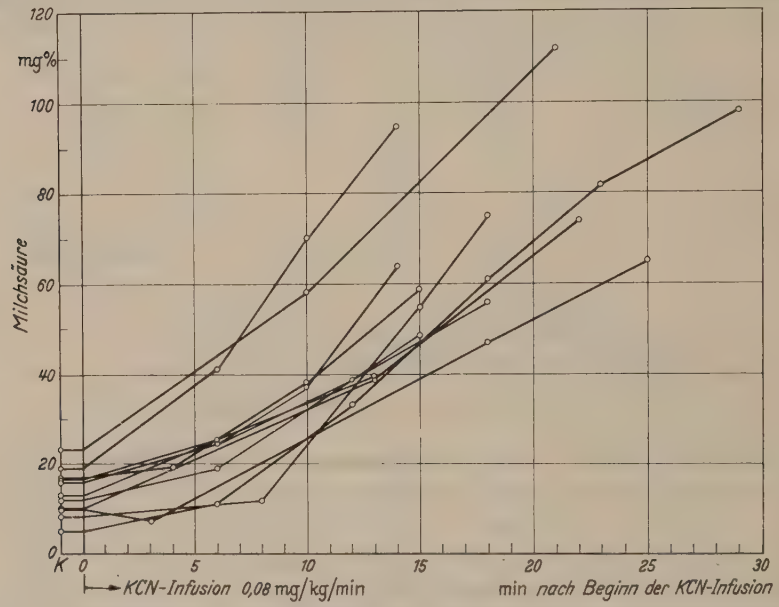


Abb. 4. Arterielle Milchsäure (mg-%) vor und während KCN-Infusionen. Messungen in 11 Versuche

sind in der Abb. 3 dargestellt. In späteren Stadien der Vergiftung war die AVD La stets positiv. Als Maximalwert fanden wir einen Wert von $+15{,}5$ mg-%. Im Mittel errechnete sich aber ein Wert von 4,8 mg-%. Bei Entnahmen in der 6. min nach Beginn der Cyanidinfusion waren von 3 Bestimmungen der AVD La zwei positiv, eine noch negativ. Bei einer Bestimmung in der 3. min fand sich ebenfalls noch eine negative AVD La. Alle Messungen zu späteren Zeitpunkten der Vergiftung ergaben eine positive AVD La.

Der Gang der Milchsäurekonzentration des Blutes (arterielles Blut) während der Cyanidvergiftung wurde an insgesamt 11 Hunden untersucht (s. Abb. 4). Als Ausgangskonzentration (vor der Infusion) fand sich ein Wert von $13{,}6 \pm 1{,}4$ mg-% (19 Messungen). Der Anstieg der Milchsäurekonzentration während der Infusion ist zunächst langsam und verläuft von etwa der 8. min ab steiler bis auf Werte in der Nähe von 100 mg-%.

Besprechung der Ergebnisse

Bestimmungen der *Sauerstoffsättigung des Blutes* unter Cyanidvergiftung wurden von Paulet und Gordh u. Norberg vorgenommen. Paulet hat in seinen Versuchen Bestimmungen der Sauerstoffsättigung des arteriellen und venösen Blutes durchgeführt. Das venöse Blut wurde allerdings aus dem rechten Vorhof entnommen. Dieses Blut ist jedoch nicht unbedingt repräsentativ für das venöse Mischblut, da im Vorhof noch keine vollständige Durchmischung erfolgt ist (Lochner). Der gesamte Vergiftungsverlauf war in den Versuchen von Paulet schneller, da höhere CN-Dosen gegeben wurden: 0,1—0,5 mg CN^-/kg/min (in unseren Versuchen 0,032 mg CN^-/kg/min). Bei Paulet zeigte die arterielle O_2-Sättigung nach kurzem Anstieg ein frühzeitiges Absinken. Die venöse Sättigung stieg sehr schnell auf 90 Sätt.% an und fiel dann ab. Sowohl das Absinken der arteriellen Sättigung wie auch das der venösen wurde durch Sauerstoffatmung verzögert.

Gordh u. Norberg haben die arterielle Sauerstoffsättigung bei Kaninchen bestimmt, die HCN inhalierten. Sie fanden ein frühzeitiges Absinken der arteriellen Sättigung.

Ob für das unterschiedliche Verhalten die Art der CN-Applikation oder die Tierart verantwortlich ist, ist noch nicht zu entscheiden. Sicherlich ist die Geschwindigkeit der CN-Applikation für den Ablauf der Vergiftung von Bedeutung. Wenn die Lungenventilation früher versagt als der Kreislauf und wenn das venöse Mischblut noch eine wesentliche Sauerstoffausnutzung zeigt, wird eine niedere arterielle Sättigung resultieren.

In unseren Versuchen kam es nicht zu einem wesentlichen Absinken der arteriellen Sättigung, auch dann nicht, wenn in der letzten Phase die AVD O_2 nochmals zunahm. Wir können daher aus unseren Versuchen keine eindeutigen Hinweise für die Beantwortung der Frage entnehmen, ob zuerst die Atmung oder der Kreislauf versagt. Zweifelsohne war auch bei unseren Versuchen in den späteren Stadien die Lungenventilation herabgesetzt. Sie war aber anscheinend wegen der verminderten Sauerstoffaufnahme im Zellstoffwechsel immer noch ausreichend. (Zur Frage der Stoffwechselsenkung durch CN s. Møller; Mercker u. Roser).

Im Gang der *Sauerstoffsättigung des venösen Coronarblutes* ist der rasche Anstieg nach Beginn der Cyanidinfusion auffallend. Er kann nicht nur durch eine Senkung der Sauerstoffaufnahme des Herzmuskels, sondern auch durch eine Zunahme der Coronardurchblutung erklärt werden.

Wir konnten in dieser Versuchsserie keine Messungen der Coronardurchblutung durchführen, doch gibt es Hinweise dafür, daß an der frühzeitigen Zunahme der venösen Sättigung des Coronarblutes eine Durchblutungssteigerung beteiligt ist. Die AVD La wird erst zu späteren Zeitpunkten eindeutig positiv. Die Sättigung des venösen Coronarblutes kann also anscheinend ansteigen, ohne daß eine stärkere Glykolyse als Ausdruck

einer Schädigung durch das Cyanid vorliegt. In 2 Versuchen wurde das EKG registriert, und es konnte festgestellt werden, daß es zu einem Anstieg der venösen Sauerstoffsättigung des Coronarblutes ohne stärkere Veränderungen im EKG kommen kann. Nach KCN-Applikation im Herz-Lungen-Präparat fanden Hilton u. Eichholtz eine sofortige Zunahme der Coronardurchblutung und eine Senkung der Sauerstoffaufnahme des Herzmuskels. Die angewandten Cyaniddosen waren jedoch wesentlich höher.

Wenn man annimmt, daß in unseren Versuchen in den ersten Minuten während der Cyanidinfusion noch keine wesentliche Senkung der Sauerstoffaufnahme des Herzmuskels eingetreten ist, muß man aus dem Verhalten der AVD O_2-Sätt.% auf eine Zunahme der Coronardurchblutung auf das Dreifache des Ausgangswertes schließen. Eine solche Zunahme der Coronardurchblutung unter Cyanid ist für den Herzmuskel ungünstig, da dadurch eine raschere Aufsättigung mit Cyanid bewirkt wird.

Eine Verkleinerung der AVD O_2-Sätt.% kann auch bei sonst gleichbleibenden Verhältnissen (O_2-Aufnahme, Herzzeitvolumen) durch Zunahme des Hämoglobingehaltes des Blutes zustandekommen. Kramer u. Luft fanden im schweren Sauerstoffmangel eine Hämoglobinzunahme im Blut von im Mittel 10,5%, d. h. daß die AVD O_2-Sätt.% im Mittel um etwa $^1/_{10}$ ihres Ausgangswertes durch eine Hämoglobinzunahme vermindert würden.

Der Anstieg der *Milchsäurekonzentration* im arteriellen Blut unter Cyanid gibt die allgemeine Schädigung des oxydativen Stoffwechsels wieder.

Am Herzen führt diese Schädigung zu einer Umkehr der normalerweise negativen AVD La. Unsere Ausgangswerte (vor Cyanidinfusion) stimmen gut mit den von Hackel u. Clowes für den Herzmuskel des narkotisierten Hundes gefundenen Werten überein. Die Tabelle gibt die Zahlenwerte wieder:

Tabelle 1

Untersucher	c_a mg-%	c_v-c_a mg-%	$\frac{c_v\text{-}c_a}{c_a}$	
Hackel u. Clowes . . .	8,9 ± 1,4	—3,8 ± 0,8	34,6 ± 13,1	9 Messungen an 9 Hunden
Eigene Messungen .	13,8 ± 1,8	—3,9 ± 1,0	25,4 ± 4,6	12 Messungen an 7 Hunden

c_a = arterielle Milchsäurekonzentration; c_v = Milchsäurekonzentration im Coronarsinusblut; $\frac{c_v\text{-}c_a}{c_a}$ = prozentuale Extraktion der arteriellen Konzentration.

Die Frage, ob der Verlauf der Cyanidvergiftung durch *Inhalation von Sauerstoff* beeinflußt wird, wurde besonders von Paulet und Gordh u. Norberg experimentell geprüft. Es wurde übereinstimmend ein günstiger

Einfluß der Sauerstoffgabe gefunden. Da durch das Cyanid die Cytochromoxydase blockiert wird, sollte an sich Inhalation von Sauerstoff keinen wesentlichen Einfluß haben können. Durch die Inhalation wird nur die Sauerstoffspannung im arteriellen Blut erhöht und damit vermehrt Sauerstoff im Plasma physikalisch gelöst (etwa 2 Vol-%). Die Zelloxydationen sollten primär hierdurch nicht beeinflußt werden. Es ist jedoch durchaus denkbar, daß durch das Cyanid die zentrale Steuerung der Lungenatmung und der Kreislauf (insbesondere der Herzmuskel) schwer geschädigt werden, bevor es zu einer weitgehenden Blockade des Stoffwechsels weniger stark durchbluteter Organe gekommen ist. Die Folge wird dann sein, daß das venöse Blut in der Lunge nicht arterialisiert wird und sich eine arterielle Hypoxie entwickelt. Auch für den verminderten peripheren Stoffwechsel wird dann der Sauerstoffantransport nicht mehr ausreichen. Eine Erhöhung des arteriellen Sauerstoffgehaltes durch Sauerstoffatmung muß dann die periphere Versorgung verbessern.

In unseren Versuchen kam es nicht zu einer wesentlichen arteriellen Sauerstoffuntersättigung, auch nicht gegen Ende der Infusion. Die venöse Sauerstoffsättigung kann allerdings gegen Ende des Versuches absinken, wodurch es zu einer Zunahme der AVD O_2-Sätt.% kommen kann. Dieser Befund läßt eine Sauerstoffatmung günstig erscheinen, und zwar unter folgenden Gesichtspunkten: Durch den Kreislaufkollaps wird die Durchblutung der Peripherie vermindert und dementsprechend die Sauerstoffausnutzung erhöht. Werden nun als Folge der Blutdrucksenkung einzelne Capillaren gar nicht oder schlecht durchblutet, so vergrößert sich dadurch die Diffusionsstrecke für den Sauerstoff im Gewebe erheblich. Unter diesen Umständen kann durch eine Erhöhung der Sauerstoffspannung im arteriellen Blut die Sauerstoffdiffusion im Gewebe verbessert werden.

Ein interessantes Problem stellt in diesem Zusammenhang der Einfluß der Sauerstoffspannung des arteriellen Blutes auf die Cyanidreaktion der Chemoreceptoren dar. Nach den Befunden von Euler, Liljestrand u. Zottermann ist die Wirkung einer CN-Injektion auf die Aktionspotentiale der chemoreceptorischen Nervenfasern durch Sauerstoffatmung vermindert. Dieser Befund besagt indirekt, daß die Störung des Stoffwechsels der Glomuszellen durch Cyanid bei hohem pO_2 geringer ist. Denkbar erscheint das nur, wenn entweder dadurch die CN-resistente Restatmung gesteigert wird oder es zu einer kompetitiven Hemmung der CN-Bindung an die Cytochromoxydase kommt.

Summary

The effects of intravenous infusions of potassium cyanide (0,08 mg/kg/min) were studied on anesthetized dogs.

The mean survival time was $28 \pm 1{,}2$ min ($n = 15$).

During the poisoning were determined: the heart rate, systolic and diastolic blood pressure, respiratory rate, the oxygen saturation of the arterial blood, the mixed venous blood and the blood of the coronary

sinus. Furthermore the arterio-venous difference of lactic acid of the heart muscle was measured. In some experiments the relative changes of the cardiac output were estimated.

The mean arterial blood pressure remained fairly constant for a longer period of the infusion, until shortly before the death of the animal the blood pressure decreased rapidly.

The oxygen saturation of the arterial blood did not change appreciably. This can be explained by the fact, that oxygen consumption is lowered when the pulmonary ventilation is depressed.

The oxygen saturation of the mixed venous blood and of the coronary sinus blood was increased during the infusion. But towards the end of the experiment a decrease could be observed.

The arterio-venous difference of lactic acid of the heart muscle was always positive after the sixth minute of the infusion.

Some aspects of the treatment of cyanide poisoning with oxygen breathing are discussed.

Literatur

Barker, S. B., and W. H. Summerson: The colorimetric determination of lactic acid in biological materials. J. of Biol. Chem. **138**, 535 (1941).

Euler, U. S. v., G. Liljestrand and Y. Zottermann: The excitation mechanism of the chemorezeptors of the carotid body. Skand. Arch. Physiol. (Berl. u. Lpz.) **83**, 132 (1940).

Gordh, J., and B. Norberg: Studies on oxygen treatment in connection with experimental hydrocyanic poisoning. Acta physiol. scand. (Stockh.) **13**, 26 (1947).

Hackel, D. B., and G. H. A. Clowes, jr.: Coronary blood flow and myocardial metabolism during hypoxia in adrenalectomized — sympathectomized dogs. Amer. J. Physiol. **186**, 111 (1956).

Hilton, R., and F. Eichholtz: The influence of chemical factors on the coronary circulation. J. of Physiol. **59**, 413 (1924/25).

Kramer, K., and U. Luft: Mobilization of red cells and oxygen from the spleen in severe hypoxia. Amer. J. Physiol. **165**, 215 (1951).

Lochner, W.: Untersuchungen über die unvollständige Mischung des Blutes im rechten Herzen mit Hilfe von Temperaturmessungen. Pflügers Arch. **256**, 296 (1953).

Lochner, W., u. H. dal Ri: Bestimmung des Herzzeitvolumens mit der Injektionsmethode durch Blutverdünnung. Pflügers Arch. **264**, 543 (1957).

Lochner, W., H. Mercker u. E. Schürmeyer: Die Wirkung von Adrenalin, Nor-Adrenalin, Acetylcholin und Vagusreizung auf die Sauerstoffsättigung des Blutes im Sinus coronarius, untersucht mit fortlaufender photometrischer Methode. Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **227**, 360 (1956).

Mercker, H., u. F. Roser: Über Kreislauf- und Stoffwechselreaktionen bei der spezifischen Behandlung der Blausäurevergiftung. Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **230**, 125 (1957).

Møller, K. O.: Die Wirkung der Blausäure auf den respiratorischen Stoffwechsel des Gesamtorganismus. Skand. Arch. Physiol. (Berl. u. Lpz.) **72**, 103 (1935).

Nahas, G. G.: Spectrophotometric determination of hemoglobin and oxyhemoglobin in whole hemolyzed blood. Science (Lancaster, Pa.) **113**, 723 (1951).

Pätau, K.: Zur statistischen Beurteilung von Messungsreihen. Biol. Zbl. **63**, 152 (1943).

Paulet, G. (1): Valeur et méchanisme d'action de l'oxygénotherapie dans le traitement de l'intoxication cyanhydrique. Arch. internat. Physiol. **63**, 340 (1955).

Paulet, G. (2): De l'importance relative de la défaillance cardiaque dans l'action léthale des cyanures. Arch. internat. Physiol. **63**, 328 (1955).

Pfleiderer, G., u. K. Dose: Eine enzymatische Bestimmung der l(+)Milchsäure mit Milchsäuredehydrase. Biochem. Z. **326**, 436 (1955).

Pijper, J.: Spectrophotometrische Bestimmung der Konzentration und der Sauerstoffsättigung des Hämoglobins im Blut. Beitr. Silikose-Forschung **45**, 45 (1956).

Prof. H. Mercker, Göttingen, Pharmakologisches Institut der Universität, Geist-Straße 9

Doz. Dr. W. Lochner, Medizinische Forschungsanstalt der Max-Planck-Gesellschaft Göttingen, Bunsenstr. 10

Arch. exper. Path. u. Pharmakol., Bd. 232, S. 470—480 (1958)

Aus den Forschungslaboratorien der CIBA Aktiengesellschaft, Basel,
Pharmazeutische Abteilung

Charakterisierung des pharmakodynamischen Wirkungsspektrums blutdrucksenkender Stoffe

Von
J. Tripod und R. Meier

(Eingegangen am 5. Juli 1957)

In mehreren Arbeiten haben wir verschiedenartige blutdrucksenkende Substanzen hinsichtlich ihres pharmakodynamischen Wirkungstypus zu charakterisieren versucht[10,16,17,18,21,25,26,27], insbesondere die quantitative Auswertung der Blutdruckkurven[19]. Aus den Untersuchungen an isolierten Organen ergab sich mit großer Eindeutigkeit, daß diesen Substanzgruppen ein außerordentlich verschiedenes pharmakodynamisches Wirkungsspektrum zukommt. Diese Analyse des Wirkungsspektrums, z. B. der primären Wirkung am isolierten Herzen und an Gefäßen von verschiedenen Tierarten, am isolierten Darm, Uterus, der antagonistischen Beeinflußbarkeit dieser Wirkungen durch Sympathicolytica, Antihistamine usw. ergibt die Möglichkeit, auch Faktoren der Wirkung zu beurteilen, welche für die spezifische blutdrucksenkende Wirkung von Interesse sind.

Diese Befunde haben aber noch in anderer Hinsicht eine weit allgemeinere Bedeutung. Die Wirkungsart von in gleicher Richtung wirksamen Substanzen muß in irgendeiner Weise dadurch charakterisiert sein, daß diese Stoffe mit bestimmten Bestandteilen des beeinflußten Systems in Reaktion treten. Diese primäre Voraussetzung ist gänzlich unabhängig davon, ob der abhängige Effekt ein direkter, primärer Effekt der ersten sich abspielenden Reaktion ist, oder ob der spätere Erfolg durch eine Freisetzung, Umwandlung, Empfindlichkeitsänderung des beeinflußten Substrates, usw. manifest wird. Im Prinzip muß der Wirkungscharakter und der Wirkungstypus der Substanz irgendwie durch die sich abspielende Reaktion mit dem Substrat gekennzeichnet werden können.

Die für diese Reaktion in Betracht kommenden Substrate sind offenbar diejenigen, welche spezifischen Wirkungskomponenten der Substanzen „entsprechen", d. h. die pharmakodynamische Charakterisierung der Wirkungsreaktion muß durch eine Kennzeichnung der

Relationen zwischen chemischer Konstitution und Wirkungen erfolgen können.

Die Feststellung einer solchen „Entsprechung" von Substanz und Substrat kann nicht durch die Verwendung einer einzigen, oder weniger typischer „spezifischer" Reaktionen erfolgen, sondern wird nur dann einen weiteren Einblick in die herrschenden Verhältnisse ergeben, wenn eine große Zahl von verschiedenen „Objekten" verwandt wird. Besonders wichtig ist eine solche Untersuchung für die Analyse des Wirkungscharakters von Substanzen, die nicht nur einem einzigen Wirkungstypus zugehören und von solchen, bei denen ein typischer Wirkungscharakter unbekannt ist. In allen Fällen muß der systematische Vergleich des verschiedenartigen Wirkungsspektrums darüber ein Urteil erlauben, in welcher Weise bei Substanzen mit gleichgerichteter Wirkung und verschiedener chemischer Struktur eine Analogie des Wirkungsspektrums und damit der Wirkungsart besteht oder in welchen Punkten Unterschiede vorhanden sind. Nur eine solche Untersuchung kann die komplexen Verhältnisse der Substrat-Substanz-Beziehung wenigstens einigermaßen erfassen.

Aus dieser Situation folgt, daß es für die Beurteilung von erheblichem Interesse ist, hypotensive oder andere Substanzen hinsichtlich ihrer pharmakodynamischen Eigenarten möglichst weitgehend zu charakterisieren, d. h. ein Wirkungsspektrum aufzustellen, welches die „spezifische" Reaktionseigenschaft mit dem Substrat in ihrer Abhängigkeit von der chemischen Struktur und ihrer antagonistischen Beeinflußbarkeit darstellt. Da wir eine große Zahl von Untersuchungen in dieser Richtung vorliegend haben, die nur zum Teil publiziert wurden, schien es uns von Interesse, sie in ihrer Gesamtheit für die Behandlung des skizzierten Problems zu verwenden.

Die Auswahl der zum Vergleich herangezogenen Testobjekte und Methoden kann eine recht vielseitige sein. Wir haben deshalb eine repräsentative Auswahl benützt, nämlich:

1. Untersuchungen am isolierten Herzen, und zwar wurde sowohl die Wirkung auf die Herztätigkeit (Frequenz und Hubhöhe), als auf den Coronardurchfluß untersucht.

2. Ferner wurde die Wirkung auf die isolierten Gefäße der durchströmten Hinterextremität bestimmt. Es wurden in beiden Fällen verschiedene Tierarten verwandt, von denen bekannt ist, daß sie in spezifischer Weise gewisse Wirkungsunterschiede zeigen gegenüber bestimmten autonomen und anderen Agentien.

3. Weiterhin wurden für die pharmakodynamische Charakterisierung im allgemeinen verwandte Organe, wie Darm, Uterus und Samenblase benutzt und alle Versuchsvarianten an den verschiedenen Objekten festgestellt.

Außer der primären Wirkung am unbeeinflußten Organ wurden in bestimmter Auswahl die Beeinflußbarkeit verschiedener spezifischer Erregungsstoffe, wie z. B. solche autonomen Charakters, Adrenalin, Noradrenalin und auch andere wie Pitressin, Histamin und Serotonin usw. und die spezifischen Antagonisten solcher Reaktionen in gleicher Weise bei den verschiedenen Wirkungen ermittelt.

Die untersuchten hypotensiven Substanzen sind die folgenden:

Acetylcholin, Adenosin, Histamin und Kallikrein als körpereigene Stoffe, Apresolin[2,7,16,25,27], Serpasil[3,4,5,26,27] und Chlorpromazin[6,12] als langdauernde, blutdrucksenkende Pharmaka, Regitin[8] als Sympathicolyticum, Pendiomid[1] als Ganglienblocker, Pyribenzamin[14] als Histaminolyticum sowie Veratrin[20,22] als Alkaloid mit besonderen Kreislaufwirkungen.

Methodik

Die für unsere Untersuchungen angewandten Methoden sind im folgenden kurz skizziert: sie unterscheiden sich in einzelnen Punkten von den in anderen Laboratorien angewandten, doch sind sie für unsere speziellen Untersuchungen in unseren eigenen Laboratorien in so vielseitiger Weise angewandt und ausgearbeitet worden, daß die Beurteilung der Werte auf Grund unserer eigenen Befunde uns wesentliche Erleichterungen bietet.

Für die Durchströmung des isolierten Warmblüterherzens nach Langendorff verwandten wir die von Uhlman-Nobile[28] in unseren Laboratorien entwickelte und üblich gewordene Methode mit gleichzeitiger Registrierung des Coronardurchflusses, der Frequenz und der Hubhöhe der Herzkontraktion.

Die Durchströmung der isolierten Gefäße der Hinterextremitäten des Kaninchens wurde nach unserer Technik[15,21,26,27] durchgeführt.

Die Wirkung am isolierten Kaninchendarm und am isolierten Meerschweinchenuterus wie auch an der isolierten Meerschweinchensamenblase wurde nach der Methode von Magnus[13] geprüft.

Versuchsresultate

Die zur einfacheren und klareren Übersicht in den Tab. 1—4 zusammengefaßten Daten beziehen sich auf folgende Beurteilungswerte:

a) Für die *direkte Wirkung* der untersuchten Pharmaka wird die Endkonzentration bestimmt, welche eine minimale, jedoch deutliche Wirkung erzeugt; es handelt sich also um eine ED_{20}. Es ist selbstverständlich ohne weiteres möglich, auch einen stärkeren bzw. maximalen Effekt zu nehmen, der zu dieser Dosis in einer gewissen Beziehung steht, doch ist für die von uns angestrebte Charakterisierung des pharmakodynamischen Wirkungstypus der von uns gewählte Faktor von gleicher oder vielleicht noch von größerer Einfachheit und Sicherheit.

b) Hinsichtlich des *Antagonismus* gegenüber verschiedenen Stoffen wird in der Weise verfahren, daß eine Wirkung des primärwirkenden Agens festgestellt wird, und die 50%ige Aufhebung dieses Wirkungsgrades zur Beurteilung herangezogen wird.

Diskussion der Versuchsergebnisse

Auf Grund der erhaltenen Befunde lassen sich entsprechend unserer primären Intention verschiedenartige Aussagen machen.

Zunächst ist die direkte Wirkung zu charakterisieren. Trotzdem alle Substanzen hypotensiv wirken, rufen nur einige eine direkte Erweiterung

Tabelle 1. *Direkte Wirkungen an isolierten Organen*

	Herz, LANGENDORFF			Gefäße	Darm	Uterus	Samenblase
	Kaninchen			Kaninch.	Kaninch.	Meerschw.	Meerschw.
	C	*F*	*A*	H.E.			
Acetylcholin	10^{-8}	$5 \cdot 10^{-8}$	10^{-8}	10^{-8}	10^{-9}	10^{-7}	10^{-7}
Adenosin	$5 \cdot 10^{-8}$	$5 \cdot 10^{-6}$	10^{-7}	10^{-5}	10^{-6}	10^{-5}	10^{-4}
Histamin	10^{-6} / 10^{-5}	10^{-7}	10^{-6}	10^{-7}	10^{-7}	10^{-8}	10^{-7}
Padutin	10^{-5}	10^{-5}	10^{-6}	10^{-5}	10^{-4}	10^{-4}	10^{-5}
Apresolin	$5 \cdot 10^{-8}$	10^{-5}	10^{-7}	10^{-4}	10^{-5}	10^{-4}	10^{-4}
Serpasil	$5 \cdot 10^{-7}$	$5 \cdot 10^{-6}$	10^{-6}	10^{-6}	10^{-6}	10^{-4}	10^{-4}
Chlorpromazin	$5 \cdot 10^{-7}$	10^{-5}	$5 \cdot 10^{-7}$	10^{-6}	10^{-7}	10^{-4}	10^{-4}
Papaverin	$5 \cdot 10^{-7}$	10^{-6}	10^{-6}	10^{-4}	10^{-6}	10^{-5}	10^{-4}
Regitin	10^{-7}	10^{-6}	10^{-7}	10^{-4}	10^{-5}	10^{-4}	10^{-4}
Pendiomid	10^{-6}	10^{-4}	10^{-6}	10^{-4}	10^{-5}	10^{-4}	10^{-4}
Pyribenzamin	10^{-6}	10^{-6}	10^{-6}	10^{-5}	10^{-4}	10^{-5}	10^{-4}
Veratrin	10^{-6}	$3 \cdot 10^{-6}$	10^{-7}	10^{-5}	10^{-5}	10^{-4}	10^{-5}

▨ = Erregung; Verengerung der Gefäße
□ = Lähmung; Erweiterung der Gefäße
◯ = Keine Wirkung

C = Coronargefäße
F = Frequenz
A = Amplitude

der isolierten Gefäße hervor, wie Acetylcholin, Adenosin und Chlorpromazin. Veratrin, Regitin und Histamin wirken verengernd, die übrigen sind praktisch unwirksam. Am isolierten Herzen wirken eine größere Zahl coronarerweiternd, so Acetylcholin, Adenosin, Apresolin, Serpasil, Chlorpromazin, Papaverin und Veratrin, die übrigen wirken coronarverengernd. Hinsichtlich Frequenz und Amplitude ist eine analoge Verteilung vorhanden. Die Wirkung an Darm, Uterus und Samenblase zeigt eine andere Einteilung der Substanzen nach ihren Effekten. Am Darm wirken alle lähmend mit Ausnahme von Acetylcholin, Histamin und Veratrin. Am Uterus wirken nur wenige einigermaßen spezifisch,

ebenso an der Samenblase. Diese Befunde zeigen somit, daß zwar für einzelne Stoffe in den gewählten Testen gleichgerichtete Effekte vorliegen, für die anderen aber eine verschiedenartige Verteilung vorliegt, die fast keine Systematisierung der Wirkungen erlauben würde. Dieses Verhalten zeigt wohl an, daß einerseits der Angriffspunkt der hypotensiven Stoffe an den glattmuskeligen Organen in ganz verschiedener

Tabelle 2

Antagonismen an den isolierten Gefäßen der Hinterextremitäten des Kaninchens

	Adrenalin 10^{-8}	Nor-Adrenalin 10^{-8}	Histamin $5 \cdot 10^{-7}$	Serotonin 10^{-7}*	Pitressin $8 \cdot 10^{-6}$	$BaCl_2$ $2 \cdot 10^{-4}$
Acetylcholin	$5 \cdot 10^{-8}$	10^{-6}	10^{-7}	$3 \cdot 10^{-8}$	$2 \cdot 10^{-6}$	10^{-7}
Adenosin	10^{-5}	$2 \cdot 10^{-5}$	$3 \cdot 10^{-7}$	$>10^{-4}$	10^{-6}	10^{-4}
Histamin	$4 \cdot 10^{-7}$	10^{-7}		$5 \cdot 10^{-8}$	$3 \cdot 10^{-6}$	10^{-6}
Padutin	10^{-4}	$>10^{-5}$	$>10^{-5}$	$5 \cdot 10^{-6}$	$>10^{-5}$	10^{-6}
Apresolin	10^{-4}	$3 \cdot 10^{-5}$	$5 \cdot 10^{-7}$	10^{-6}	$3 \cdot 10^{-6}$	$5 \cdot 10^{-6}$
Serpasil	$>10^{-5}$	$>10^{-5}$	$>10^{-5}$	10^{-5}	$>10^{-6}$	10^{-6}
Chlorpromazin	$3 \cdot 10^{-6}$	10^{-7}	$4 \cdot 10^{-9}$	10^{-9}	10^{-6}	$7 \cdot 10^{-7}$
Papaverin	$7 \cdot 10^{-6}$	10^{-5}	$3 \cdot 10^{-6}$	10^{-6}	$5 \cdot 10^{-6}$	10^{-5}
Regitin	10^{-7}	$8 \cdot 10^{-8}$	10^{-5}	$2 \cdot 10^{-6}$	$>10^{-4}$	$>10^{-5}$
Pendiomid	10^{-4}	10^{-4}	10^{-4}	$>10^{-4}$	10^{-4}	10^{-4}
Pyribenzamin	$>10^{-5}$	$>10^{-5}$	10^{-9}	10^{-6}	$>10^{-5}$	$>10^{-4}$
Veratrin	$>10^{-5}$	$>5 \cdot 10^{-5}$	$>10^{-4}$	$5 \cdot 10^{-8}$	10^{-5}	10^{-5}

□ = Antagonismus ▨ = Synergismus ◯ = keine Wirkung

* = injiziert

Weise erfolgen muß, und daß zwischen den verschiedenen Receptorsystemen der verschiedenen Organe nur ausnahmsweise eine Analogie besteht.

Hinsichtlich der weiteren Charakterisierung der Wirkungstypen lassen sich auf Grund der antagonistischen Beeinflußbarkeit zwei Arten von Schlußfolgerungen ziehen:

Zunächst läßt sich der Wirkungstypus der einzelnen Substanz im Verhältnis zu anderen spezifisch, autonomen Reaktionstypen in eine klare Beziehung setzen.

Am einfachsten ist der Wirkungscharakter an denjenigen Substanzen darzustellen, welche einen klassischen Wirkungscharakter haben, z. B.

Tabelle 3. *Antagonismen am isolierten Herzen nach Langendorff*

	Kaninchen						Katze					
	Pitressin 10^{-6}			$BaCl_2$ $5 \cdot 10^{-5}$			Adrenalin 10^{-8}			Histamin $5 \cdot 10^{-8}$		
	C	*F*	*A*	*C*	*F*	*A*	*C*	*F*	*A*	*C*	*F*	*A*
Acetylcholin	$2 \cdot 10^{-7}$	(10⁻⁶)	10⁻⁶	10^{-8}	10^{-8}	(10⁻⁷)	$< 10^{-7}$	$< 10^{-7}$	$< 10^{-7}$	10^{-7}	$< 10^{-7}$	10^{-7}
Adenosin	$2 \cdot 10^{-8}$	$> 10^{-6}$	$5 \cdot 10^{-7}$	$5 \cdot 10^{-8}$	(10⁻⁶)	(10⁻⁶)	10^{-7}	10^{-5}	10^{-5}	(10⁻⁶)	(10⁻⁶)	10^{-6}
Histamin	10^{-7} / 10^{-5}	$3 \cdot 10^{-7}$ / 10^{-5}	10^{-7} / 10^{-5}	10^{-7}	$3 \cdot 10^{-6}$	$5 \cdot 10^{-7}$	10^{-6}	10^{-6}	10^{-6}			
Padutin	$> 10^{-5}$	(10⁻⁵)	(10⁻⁵)	$> 10^{-5}$	(10⁻⁵)	$> 10^{-5}$	(10⁻⁵)	10^{-6}	(10⁻⁵)	$< 10^{-6}$	10^{-5}	10^{-6}
Apresolin	$5 \cdot 10^{-8}$	$> 10^{-6}$	$2 \cdot 10^{-7}$	10^{-7}	10^{-7}	10^{-7}	10^{-7}	(10⁻⁷)	$< 10^{-7}$	10^{-7}	(10⁻⁷)	$< 10^{-7}$
Serpasil	10^{-6}	$> 10^{-5}$	10^{-6}	10^{-6}	(10⁻⁶)	(10⁻⁶)	$2 \cdot 10^{-6}$	$2 \cdot 10^{-6}$	$2 \cdot 10^{-6}$	(10⁻⁷)	(10⁻⁷)	(10⁻⁷)
Chlorpromazin	10^{-6}	$5 \cdot 10^{-6}$	10^{-7}	10^{-6}	$3 \cdot 10^{-6}$	$3 \cdot 10^{-6}$	10^{-6}	10^{-5}	$3 \cdot 10^{-7}$	10^{-5}	$> 10^{-5}$	(10⁻⁵)
Papaverin	10^{-6}	10^{-6}	10^{-6}	$2 \cdot 10^{-6}$	10^{-5}	10^{-5}	10^{-5}	$> 10^{-5}$	$> 10^{-5}$	(10⁻⁵)	(10⁻⁵)	10^{-5}
Regitin	10^{-6}	10^{-6}	10^{-6}	10^{-6}	(10⁻⁶)	(10⁻⁶)	$2 \cdot 10^{-6}$	10^{-5}	10^{-5}	10^{-6}	10^{-5}	10^{-6}
Pendiomid	(10⁻⁴)	(10⁻⁴)	(10⁻⁴)	(10⁻⁴)	(10⁻⁴)	(10⁻⁴)	$> 10^{-4}$	(10⁻⁴)	$> 10^{-4}$	(10⁻⁴)	(10⁻⁴)	$> 10^{-4}$
Pyribenzamin	10^{-6}	(10⁻⁶)	(10⁻⁶)	10^{-6}	10^{-6}	(10⁻⁶)	(10⁻⁶)	(10⁻⁶)	(10⁻⁶)	10^{-6}	10^{-6}	10^{-6}
Veratrin	10^{-6}	$3 \cdot 10^{-6}$	10^{-6}	$3 \cdot 10^{-6}$	10^{-6}	$3 \cdot 10^{-6}$	$3 \cdot 10^{-6}$	$2 \cdot 10^{-6}$	$5 \cdot 10^{-7}$	10^{-6}	10^{-6}	$3 \cdot 10^{-8}$

Antagonismus Synergismus ○ keine Wirkung *C* = Coronargefäße *F* = Frequenz *A* = Amplitude

den Sympathicolytica. Sie sind durch bestimmte Wirkungen an den verschiedenen isolierten Organen gekennzeichnet, die sich im wesentlichen dadurch charakterisieren, daß die Adrenalin- oder Noradrenalinwirkung gehemmt wird. Sie haben allerdings, abhängig von der chemischen Struktur, noch andere Wirkungen, welche z. B. beim Regitin in einem gewissen Antagonismus gegenüber Histamin sich ausdrücken, die aber wohl im Gesamtwirkungscharakter nur in beschränktem Maße von Bedeutung sind.

Tabelle 4. *Antagonismen an isolierten Organen*

	Acetylcholin $5 \cdot 10^{-7}$	$BaCl_2$ $2 \cdot 10^{-4}$	Histamin $5 \cdot 10^{-8}$	Adrenalin $3 \cdot 10^{-6}$
	Kaninchen-Darm	Kaninchen-Darm	Meerschw.-Darm	Meerschw.-Samenblase
Acetylcholin		10^{-8}	10^{-8}	10^{-8}
Adenosin	$>10^{-4}$	10^{-4}	$>10^{-4}$	10^{-4}
Histamin	10^{-7}	10^{-7}		10^{-7}
Padutin	10^{-5}	10^{-4}	10^{-4}	10^{-4}
Apresolin	10^{-5}	10^{-3}	10^{-4}	10^{-4}
Serpasil	10^{-6}	10^{-6}	10^{-6}	$3 \cdot 10^{-6}$
Chlorpromazin	$3 \cdot 10^{-6}$	$3 \cdot 10^{-6}$	$3 \cdot 10^{-8}$	$5 \cdot 10^{-8}$
Papaverin	$3 \cdot 10^{-5}$	10^{-5}	10^{-4}	$2 \cdot 10^{-5}$
Regitin	10^{-5}	10^{-4}	$5 \cdot 10^{-6}$	10^{-7}
Pendiomid	10^{-4}	10^{-4}	10^{-4}	10^{-5}
Pyribenzamin	$3 \cdot 10^{-6}$	10^{-5}	$3 \cdot 10^{-9}$	10^{-5}
Veratrin	10^{-5}	10^{-5}	10^{-5}	10^{-5}

□ = Antagonismus ▨ = Synergismus ○ = keine Wirkung

Ein weiterer charakteristischer Typus der pharmakologischen Wirkung stellt z. B. das Papaverin dar, welches an den Gefäßen vor allem eine antagonistische Wirkung gegenüber Serotonin, $BaCl_2$, Pitressin und Histamin besitzt.

Pyribenzamin zeichnet sich dadurch aus, daß es praktisch nur Histamin antagonistisch beeinflußt, während Pendiomid in Testen an isolierten Organen unwirksam ist. Beim Veratrin spielt vor allen Dingen die Steigerung der zentripetalen, vagalen Impulse eine wesentliche Rolle. Sie ist am isolierten Organ nicht nachweisbar. Trotzdem können auch bei diesem Stoff gewisse periphere Elemente der Wirkung in Betracht gezogen werden, z. B. der Antagonismus gegenüber Pitressin, den wir letzthin aufgefunden haben.

Daneben zeigen unter den restlichen Pharmaka Apresolin, Serpasil und Chlorpromazin (Papaverin) und bis zu einem gewissen Grade Kallikrein in diesen pharmakologischen Testen charakteristische, aber von den übrigen Stoffen abweichende Wirkungen, vor allem einen auffallenden polyvalenten Antagonismus gegen Histamin, Serotonin, Pitressin und $BaCl_2$.

An den isolierten Gefäßen zeigen somit alle Substanzen eine erweiternde Wirkung gegenüber verengernden Effekten; dies ist das Gemeinsame, mit Ausnahme des Pendiomid. Hinsichtlich der Beziehung zum Substrat greifen sie aber, dargetan durch die antagonistische Auswahl an verschiedenen Komponenten an; darin besteht der Unterschied der Wirkung.

Diese Gleichartigkeit und Verschiedenartigkeit zeigt sich in analoger Weise in den Wirkungen am isolierten Herzen. Betrachten wir hier vor allem die Wirkung auf die Coronargefäße, die mit derjenigen an den peripheren Gefäßen am ehesten vergleichbar ist, so ergibt sich das Folgende:

Eine Reihe hypotensiver Pharmaka rufen eine Erweiterung der Coronargefäße hervor. Diese zeigen auch meist Antagonismen gegenüber coronarverengernden Stoffen. Allerdings sind sie darin verschieden, daß einige praktisch alle coronarverengernden Stoffe hemmen, andere dagegen zeigen eine gewisse Spezifität der antagonistischen Wirkung, die besonders an einer Tierart zum Ausdruck kommen kann. Die wenig coronarerweiternden Stoffe haben, abgesehen von ihrer spezifischen Wirkung keine antagonistische Wirkung gegenüber coronarverengernden Stoffen. Auf Grund ihrer Wirkung auf die Coronargefäße zerfallen somit die hypotensiven Stoffe in zwei deutlich getrennte Gruppen.

Vergleicht man diese Befunde mit denjenigen der Blutdruckwirkung[19], so muß daraus der Schluß gezogen werden, daß blutdrucksenkende Wirkungen auf Grund formal sehr verschiedener pharmakodynamischer Wirkungsmechanismen zustande kommen können.

Besonders bedeutungsvoll scheint die Gleichartigkeit bzw. Verschiedenartigkeit der Wirkung an peripheren und Coronargefäßen zu sein. Außerdem ist das Vorhandensein isolierter Antagonismen und die Wirkungsart die Ursache negativer oder positiver Bedeutung für die hypotensive Wirkung.

Für die Einordnung des Wirkungstypus ist die Beurteilung der Wirkung an anderen Organen für analoge pharmakodynamische Situationen wichtig. Besonders geeignet scheint dafür die Untersuchung der gleichen Antagonismen. Bei der Untersuchung der direkten Wirkung an Darm, Uterus und Samenblase zeigt sich am Darm eine ziemlich gleichartige lähmende Wirkung. Nur Acetylcholin, Histamin und Veratrin sind erregend. Es besteht somit eine beschränkte Parallelität der Wirkungsrichtung. Das gleiche gilt für den Wirkungscharakter am Uterus und an der Samenblase, an denen überhaupt nur die typischen Wirkstoffe, wie

Acetylcholin und Histamin eine Wirkung zeigen. Hinsichtlich der antagonistischen Wirkung gegenüber Acetylcholin, $BaCl_2$, Histamin und Adrenalin zeigen einige Stoffe typische Effekte, so Acetylcholin, das in allen Fällen synergistisch wirkt, und Serpasil und Chlorpromazin, die in allen Fällen antagonistisch wirken. Alle anderen Stoffe zeigen nur unspezifische Effekte mit Ausnahme von Regitin und Pyribenzamin, die ihre spezifischen Antagonismen bewahren.

Es geht aus diesen Tatsachen hervor, daß die Substanzen, die chemisch zum Teil durchaus abweichend von den typischen, autonomen Wirkstoffen gebaut sind, einzelne autonome Wirkungen trotzdem besitzen und zwar in ausgesprochenem Maße, daß hingegen gleichzeitig andere Wirkungen mit diesen vergesellschaftet sind oder ohne sie auftreten. Wenn man alle Wirkungstypen zu interpretieren versucht, so muß man zu dem Eindruck kommen, daß das der Wirkung unterliegende Substrat eine Kombination von Angriffsmöglichkeiten bietet, an denen die besondere chemische Struktur einzelner Substanzen eine Auswahl trifft, welche nicht nur der Auswahl, die durch die spezifischen autonomen Wirkstoffe getroffen wird, entsprechen muß, sondern eine eigenartige Mischung von verschiedenartigen Wirkungsangriffspunkten autonomen und anderen Charakters besitzt.

Es zeigt diese Interpretation, daß für bestimmte Wirkungstypen neben dem „autonomen" Reaktionssystem ein oder mehrere andersartige Systeme beansprucht werden, welche hinsichtlich der Entsprechung der chemischen Strukturen sich von diesem unterscheiden. Daß aber gewisse Substanzen den einen mit dem anderen Wirkungstypus kombiniert besitzen können, zeigt, daß grundsätzlich diese Angriffssysteme in Beziehungen zu einander stehen.

Die Besonderheiten der Reaktionssysteme kommen in dem Angriffsmechanismus als solchem, der Verteilung der Wirkungen am Kreislaufsystem und an anderen Systemen und der spezifischen antagonistischen Beeinflußbarkeit zum Ausdruck. Die Gesamtheit der Daten charakterisiert sowohl den bestimmter Substanzen eigenen Wirkungscharakter als auch die entsprechenden Eigenschaften des Substrates.

Eine weitere zu erwägende Frage ist die, in welcher Weise die allgemeinen pharmakodynamischen Wirkungen für die Charakterisierung des Mechanismus der hypotensiven Wirkung und ihres Substrates herangezogen werden können. Diese Frage bereitet erhebliche Schwierigkeiten, weil z.B. der biochemische Charakter der hypotensiven Wirkung in den meisten Fällen unbekannt ist. Trotzdem läßt sich eine Interpretation in folgender Weise versuchen. Wir haben bereits früher darauf hingewiesen, daß die Beziehung der chemischen Struktur zum Substrat nicht nur durch die spezifischen und positiven Wirkungen bestimmt wird, sondern auch durch alle unspezifischen und auch durch die fehlenden Effekte[27].

Mit anderen Worten gesagt, die Beziehung chemische Substanz/Substrat ist durch ein positives „Auswahlpattern" und durch ein negatives „Auslaß"- oder „Blockierungspattern" gekennzeichnet. Will man diese Auffassung akzeptieren, so wäre z. B. der hypotensive Wirkungsmechanismus der Ganglienblocker in einer chemischen Struktur vorhanden, die zwar die spezifische Wirkung besitzt, aber an fast allen anderen Wirkungsorten keinen Effekt hat. Damit wäre auch der Angriffspunkt des Ganglienblockers zum mindesten in seiner negativen Auslese gegenüber den anderen abzugrenzen.

Bei den blutdrucksenkenden Hydrazinen würde der hypotensive Wirkungsmechanismus dadurch bedingt sein, daß ein Effekt an einem oder mehreren Substraten ausgeübt wird, der sowohl im Kreislaufsystem und bei verschiedenen Organen usw. bedeutungsvoll ist. Da wir beschrieben haben, daß diese Hydrazine Beziehungen zu Fermentsystemen besitzen, Oxydations-Katalysen der biogenen Amine durch Metalle usw. hemmen oder fördern[9,11,23,24] scheint das vorliegende Verteilungsspektrum in diesem Typus irgendwie zum Ausdruck zu kommen.

Bei Serpasil liegt die Sachlage wieder anders, bei ihm dürfte, wenn analoge Verhältnisse bestimmend sind, ein eigenartiges Freisetzungspattern am Ganztier den Wirkungstypus bestimmen. Dieser ist einerseits ursächlich verantwortlich für die hypotensive Wirkung und andererseits bestimmend für den besonderen durch die Substanz/Substrat-Beziehung und die Anordnung des Substrates bedingten Wirkungstypus.

Es geben somit diese Erwägungen Anhaltspunkte für eine allgemeine Interpretation der komplexen Wirkungsursachen. Es ist zuzugeben, daß eine solche Auffassung eine Vereinfachung, vielleicht eine unzulässige beinhaltet, trotzdem scheint uns diese Betrachtungsweise von heuristischem Werte zu sein, nämlich dahin, die spezifischen und unspezifischen, ja auch die fehlenden Wirkungselemente nach einer einheitlichen Stoff/Substrat-Beziehung zu verstehen.

Die nächste Aufgabe dürfte sein, diese Art der Deutung auf weitere Substanzgruppen auszudehnen. In praktischer Hinsicht dürfte sie bereits jetzt die Möglichkeit zu einer besseren Eingruppierung pharmakodynamischer Wirkungstypen ergeben.

Zusammenfassung

Das pharmakodynamische Wirkungsspektrum einer ausgewählten Gruppe von hypotensiven Stoffen wird bestimmt. Es wird ihre direkte Wirksamkeit an den isolierten Kreislauforganen sowie an typischen pharmakologischen Testobjekten wie Darm, Uterus, Samenblase und ihr antagonistisches Verhalten gegenüber einer Reihe von spezifischen Wirkstoffen ermittelt.

Trotzdem alle Stoffe hypotensiv wirken, zeigen sie hinsichtlich der direkten Wirkung an peripheren und Coronargefäßen ausgesprochene

Unterschiede; es fehlen bei vielen die für hypotensive Stoffe mit spezifischen Angriffspunkten charakteristischen Wirkungen an anderen Objekten.

Im Gegensatz zu dem Typus der Wirkstoffe, die einen spezifischen Antagonismus zeigen, ist auch das antagonistische Verhalten gegenüber Adrenalin, Pitressin, $BaCl_2$, usw. abweichend; teils treten vereinzelte Antagonismen auf, teils ein breites Spektrum von antagonistischen Effekten, teils fehlen diese ganz. Dies gilt einerseits für die Wirkung an Kreislauforganen, andererseits in wiederum für sich eigenartiger Weise an anderen Objekten.

Die pharmakodynamische Wirkung der untersuchten hypotensiven Stoffe ist also durch charakteristische pharmakodynamische Spektren gekennzeichnet. Die allgemeine Bedeutung dieser Feststellungen für die Charakterisierung der Beziehung Substanz/Substrat und damit der Vielgestaltigkeit des Substrates wird diskutiert.

Literatur

[1] Bein, H. J., u. R. Meier: Schweiz. med. Wschr. **1951**, 81, 446.
[2] Bein, H. J., F. Gross, J. Tripod u. R. Meier: Schweiz. med. Wschr. **1953**, 83, 336.
[3] Bein, H. J., F. Gross, J. Tripod u. R. Meier: Schweiz. med. Wschr. **1953**, 83, 1007.
[4] Bein, H. J.: Experientia (Basel) **9**, 107 (1953).
[5] Bein, H. J.: Pharmacol. Rev. **8**, 435 (1956).
[6] Courvoisier, S., J. Fournel, R. Ducrot, M. Kolsky u. P. Koetschet: Arch. internat. Pharmacodynamie **92**, 105 (1953).
[7] Gross, F., J. Druey u. R. Meier: Experientia (Basel) **6**, 11 (1950).
[8] Gross, F., J. Tripod u. R. Meier: Schweiz. med. Wschr. **1951**, 81, 352.
[9] Gross, F., W. Schuler, J. Tripod u. R. Meier: Experientia (Basel) **8**, 229 (1952).
[10] Gross, F.: Klin. Wschr. **1955**, 1113.
[11] Jaques, R., J. Tripod u. R. Meier: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **230**, 26 (1957).
[12] Laborit, H., P. Huguenard u. R. Alluaume: Presse méd. **1952**, 60, 206.
[13] Magnus, R.: Pflügers Arch. **102**, 123; **103**, 515 (1904).
[14] Mayer, R., C. P. Huttrer and C. R. Scholz: Science (Lancaster, Pa.) **102**, 93 (1945).
[15] Meier, R., u. R. Th. Meyer: Schweiz. med. Wschr. **1941**, 71, 1206.
[16] Meier, R., J. Tripod u. C. Brüni: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **223**, 338 (1954).
[17] Meier, R., H. J. Bein, F. Gross u. J. Tripod: 3rd Internat. Congress for Internat. Medicine, Stockholm (1954).
[18] Meier, R., u. J. Tripod: IIème Congrès International d'Angéiologie, Fribourg, **46** (1955).
[19] Meier, R., J. Tripod u. C. Brüni: Arch. internat. Pharmacodynamie **101**, 158 (1955).
[20] Meier, R., J. Tripod u. C. Brüni: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **226**, 319 (1955).
[21] Meier, R., J. Tripod u. E. Wirz: Arch. internat. Pharmacodynamie **109**, 55 (1957).
[22] Rothlin, E., u. A. Cerletti: Schweiz. med. Wschr. **1954**, 84, 137.
[23] Schuler, W., u. R. Meier: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **223**, 169 (1954).
[24] Schuler, W., u. R. Meier: Helv. Physiol. Acta **13**, 106 (1955).
[25] Tripod, J., u. R. Meier: Helv. Physiol. Acta **12**, C 33 (1954).
[26] Tripod, J., u. R. Meier: Arch. internat. Pharmacodynamie **97**, 251 (1954).
[27] Tripod, J., u. R. Meier: Arch. internat. Pharmacodynamie **99**, 104 (1954).
[28] Uhlman, F., F. Nobile: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **192**, 189 (1939).

Prof. Dr. R. Meier, Basel (Schweiz),
Forschungslaboratorien der CIBA Aktiengesellschaft

Arch. exper. Path. u. Pharmakol., Bd. 232, S. 481—486 (1958)

Aus dem Pharmakologischen Institut der Medizinischen Schule Nippon

Die Verteilung der Histidindecarboxylase in verschiedenen Gebieten des Zentralnervensystems und Effekte einiger Narkotica und Analeptica auf die Enzymaktivität

Von

T. Naito und K. Kuriaki

Mit 1 Textabbildung

(Eingegangen am 1. August 1957)

Ein Zusammenhang zwischen Histamin und der Funktion des Nervensystems wird von einigen Autoren vertreten; man hat sogar von „histaminergischen Nerven" gesprochen. Einerseits schreibt man dem Histamin die Funktion des Überträgerstoffes sensibler Nerven zu. In der Tat hat Kwiatkowski einen hohen Histamin-Gehalt in sensiblen Nerven und im Kleinhirn gefunden. Eine histaminähnliche gefäßerweiternde Wirkung findet sich in Extrakten aus Hinterwurzeln des Rückenmarks und beim Axonreflex. Andererseits haben v. Euler, Werle und andere den Histamingehalt des Nervensystems vergleichend analysiert und gefunden, daß Histamin am reichlichsten in den sympathischen Nerven, aber nur spärlich im Gehirn und Rückenmark enthalten ist. Trendelenburg meint, daß Histamin nicht nur auf die peripheren sympathischen Ganglienzellen, sondern auch auf die Nervenzellen des Zentralnervensystems eine gewisse Wirkung ausübt. Seine Feststellung beruht auf dem Befund, daß kleine Histamin-Mengen in den sympathischen Halsganglien die Impulsüberleitung fördern und eine Kontraktion der Nickhaut bei Katzen hervorrufen, und daß nach Injektion sehr kleiner Menge von Histamin in den Seitenventrikel des Katzenhirns eine Blutdrucksteigerung auftritt, die durch vorherige Darreichung eines Antihistaminicums verhindert wird. Nach Crossland ist das Kleinhirn sehr empfindlich gegen Histamin, indem eine Spur davon die dortige elektrische Aktivität deutlich erhöht.

Wie Bloch u. Pinösch sowie Holtz u. Heise aufgeklärt haben, wird Histamin im Körper durch die Histidindecarboxylase (HDK) aus Histidin gebildet. Im Einklang mit dem Histamingehalt des Nervensystems ist die Enzymaktivität nach v. Euler sowie nach Holtz u. Mitarb. am höchsten im Sympathicus, schwächer im Vagus, im

Brachialplexus und Ischiadicus, am niedrigsten im Gehirn. Es ist aber auch möglich, daß sie in den einzelnen Gebieten des Gehirns verschieden ist, wie der oben erwähnte Befund von Kwiatkowski es andeutet.

Im folgenden berichten wir über die Verteilung der Histidindecarboxylaseaktivität im Gehirn und Rückenmark, sowie über die Wirkung zentral erregender und lähmender Mittel auf die Enzym-aktivität, ferner über die intracelluläre Verteilung des Enzyms.

Methodik

Versuchsmaterial war frisch vom Schlachthaus gewonnenes Rindergehirn und -Rückenmark, das sofort auf Eis in der Thermoflasche gelegt und zum Laboratorium gebracht wurde. Je zwei Gramm des Materials wurden von bestimmten Stellen der folgenden Gebiete ausgeschnitten: Gyrus praecentralis, Gyrus postcentralis, Thalamus, Hypothalamus, Nucleus lentis, Nucleus caudatus, Corpus callosum, Colliculus rostralis, Colliculus caudalis formi, Corpus geniculatum laterale, Corpus geniculatum mediale, Nucleus ruber, Substantia nigra, Corpus mamillare, Vermis des Kleinhirns, vordere und hintere Hälfte des Rückenmarks und Nervus opticus. Nach Hinzufügung von 10 cm^3 Phosphatpufferlösung (p_H 7,4) wird das Gewebe unter Eiskühlung mit Potters Homogenisator zu Brei gemahlen. Die Bestimmung der HDK-Aktivität erfolgte nach der Beschreibung von Holtz u. Mitarb. Jedes Reagensglas enthielt 5 cm^3 des Breis, 50 mg l-Histidin, ein zentral wirkendes Mittel in verschiedenen Konzentrationen und 0,5 cm^3 Toluol; außerdem Isonicotinsäurehydrazid $1 \cdot 10^{-5}$, das gebildete Histamin vor dem Abbau durch die Diaminoxydase (Histaminase) zu schützen, wodurch die gesamte Menge auf 10 cm^3 gebracht wird. Die Kontrollen enthielten kein Histidin. Nach Inkubation von 15—24 Std bei 37° C wird der Inhalt des Reagensglases zentrifugiert (2,000 Umdrehungen/min, 10 min lang). 0,5 cm^3 der überstehenden Flüssigkeit wird bei Katzen unter Urethannarkose intravenös injiziert, um ihre Wirkung auf den Carotis-Blutdruck mit der einer bestimmten Menge von Histamin zu vergleichen. Die HDK-Aktivität wird durch die von 1 g frischen Gewebes in 24 Std gebildete Histaminmenge ausgedrückt. Die Kontrollwerte werden in Abzug gebracht.

Die geprüften Stoffe sind Barbital, Paraldehyd, Morphin, Koffein. natr. benz. und Pentamethylentetrazol.

Für das Studium der intracellulären Verteilung des Enzyms wurde die Differentialzentrifugierung nach der Methode von Hogeboom, Schneider u. Pallade ausgeführt. Die Mikrosomenfraktion konnte wegen der Unzulänglichkeit unserer Zentrifuge nicht präpariert werden. Der Brei des Nervengewebes wurde in Nuclearfraktion, Mitochondrienfraktion und überstehende Flüssigkeit aufgeteilt.

Ergebnisse und Besprechung

Der Zusatz von Isonicotinsäurehydrazid ($1 \cdot 10^{-5}$) erhöht die gebildete Histaminmenge um 54%. Höhere Konzentrationen steigern den Effekt nur unbeträchtlich, so daß die Dosis von $1 \cdot 10^{-5}$ angewandt wurde (Abb. 1).

Die HDK-Aktivität verschiedener Gebiete des Zentralnervensystems ist in Tab. 1 zusammengefaßt, in der die Zahlen Durchschnittswerte von je 5—10 Versuchen sind. Am stärksten ist die Aktivität im Vermis des Kleinhirns, indem 16,32 γ/g Histamin dort durch das Enzym bei 24-stündiger Inkubation produziert wird. Das steht im Einklang mit dem

Befund von Kwiatkowski, der im Kleinhirn einen besonders hohen Histamingehalt gefunden hat. Obwohl die Fermentaktivität je nach Gebiet variiert, ist sie doch überall nachweisbar. In N. opticus und in der hinteren Hälfte des Rückenmarks, die reich an zentripetalen Nerven ist, findet sich keine größere Aktivität als in der vorderen Hälfte, so daß hieraus kein Anhaltspunkt für das Vorliegen „histaminergischer Neuronen" gewonnen werden kann.

Sowohl die Hirnrinde als auch die Basalganglien haben eine weit geringere Aktivität. Das Corpus callosum war am schwächsten wirksam.

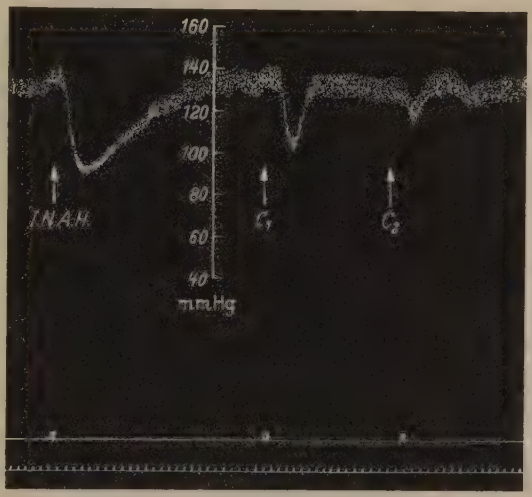


Abb. 1. Hemmung der Histaminase durch Isonikotinsäurehydrazid. Katze 1,6 kg. Urethannarkose. Injektion von 0,5 cm³ eines Inkubates von INAH: Homogenat von Großhirnrinde-Histidin (50 mg)-Isonikotinsäurehydrazid (110); C_1: Homogenat von Großhirnrinde-Histidin (50 mg); C_2: Homogenat von Großhirnrinde

Abood u. Mitarb. haben auch gefunden, daß der Gehalt an verschiedenen Enzymen um 50% höher in der grauen Substanz als in der weißen Substanz ist. Zettler und Schlosser studierten die Verteilung der Cholinacetylase und der Substanz-P im Gehirn, und stellten fest, daß die beiden eine entgegengesetzte Verteilung zeigen, indem an Substanz-P reiche Gebiete arm an Cholinacetylase sind und vice versa, und daß die P-Substanz in den Basalganglien am reichlichsten enthalten ist. Zwischen der Verteilung der HDK-Aktivität und derjenigen der Cholinacetylase scheint kein Zusammenhang zu bestehen.

Wenn eine durch Enzymwirkung im Nervengewebe gebildete Substanz an den Nervenfunktionen teilnimmt, so kann das für den Wirkungsmechanismus zentralwirkender Pharmaka von Bedeutung sein. In unseren Versuchen (Tab. 2) wirkte *Morphin* (100 γ/g) *in vitro* hemmend auf die HDK-Aktivität im Hypothalamus, und Barbital auf die in der Großhirnrinde und im Nucleus caudatus. Konzentrationen von 50 γ/g waren wirkungslos.

Koppanyi, Dille u. Krop haben beobachtet, daß in der Barbitalnarkose die Barbitalkonzentration in der Großhirnrinde, im Thalamus, in der Medulla und im Kleinhirn beim Hund 0,065 $\pm$ 0,15, 0,05 $\pm$ 0,12, 0,02 $\pm$ 0,065 und 0,012 $\pm$ 0,06 mg/g erreicht. Daher könnte die Konzentration 100 γ/g, die eine Hemmung der HDK verursacht (Tab. 2), als eine in vivo im Gehirn erreichbare Konzentration angesehen werden.

Die HDK-Aktivität wird aber auch durch Pentamethylentetrazol, ein centrales Analepticum, in der Konzentration von 50 γ/g gehemmt; dagegen ist Koffein wirkungslos (siehe Tab. 2). Demnach hat ein Narcoticum und ein Analepticum auf die Enzym-aktivität denselben Effekt, so daß ein Zusammenhang zwischen HDK-Aktivität und pharmakalogischer Wirkung unwahrscheinlich ist.

Tabelle 1

Histidindecarboxylase-Aktivität verschiedener Gebiete des Rindergehirns

Gebiete des Gehirns	Die Menge des durch die Enzym-aktivität gebildeten Histamins in γ/g frisches Gewebe (s. Methodik)
Vermis des Kleinhirns	16,32 ± 2,16
Hypothalamus	14,4 ± 2,37
Nucleus lentiformis	14,4 ± 1,6
Thalamus	13,44 ± 1,29
Gyrus postcentralis	12,0 ± 1,51
Gyrus praecentralis	11,5 ± 1,72
Corpus geniculat. med.	11,3 ± 2,16
vordere Hälfte des Rückenmarks	10,58 ± 1,96
Colliculus rostralis	10,47 ± 2,05
Nucleus caudatus	10,3 ± 2,05
Nervus opticus	9,9 ± 0,97
Colliculus caudalis	9,36 ± 1,19
Substantia nigra	8,64 ± 1,18
hintere Hälfte des Rückenmarks	8,3 ± 0,52
Corpus mamillare	7,83 ± 0,86
Corpus geniculat. lat.	7,83 ± 1,94
Substantia rubra	6,48 ± 1,51
Corpus callosum	5,94 ± 2,4

Was nun die intracelluläre Verteilung der HDK anbetrifft, zeigen beim Homogenat vom *Nucleus lentiformis* die Mitochondrienfraktion, Nuclearfraktion und die überstehende Flüssigkeit 7,7 ± 1,06, 5,3 ± 0,8 bzw. 2,3 ± 0,6 gegen 15,3 ± 1,8 γ/g des Homogenates. Daraus folgt, daß die Mitochondrien 58% der HDK-aktivität der Nervenzellen enthalten. Doch mag ihr Gehalt noch höher sein, da die Nuclearfraktion, welche 29% der HDK-aktivität enthält, nicht ganz aus Zellkernen besteht, sondern auch aus noch intakten Zellen. Das *Großhirnrinden*-homogenat besaß einen fast gleichen Verteilungsprozentsatz: Mitochondrienfraktion 53,1%, Nuclearfraktion 31,6%, überstehende Flüssigkeit 15,3%.

Nach Aboods Versuchen mit Ischiadicus und Spinalnerven von Ratten sind die Enzyme der Nervenzellen so verteilt, daß die meisten oxydativen und phosphorylierenden Enzyme sowie die Calcium-aktivierte ATP-ase in Mitochondrien, die Phosphatenzyme und die Magnesiumaktivierte ATP-ase im Mikrosomen und die glykolytischen Enzyme

Tabelle 2. *Einfluß einiger central erregender und lähmender Stoffe auf die Histidindecarboxylase-aktivität verschiedener Gebiete des Rindergehirns in vitro*

	Kontrolle	Barbital		Morphin		Paraldehyd	Pentamethylentetrazol		Koffein
		100 γ/g	10 γ/g	100 γ/g	50 γ/g	50 γ/g	50 γ/g	10 γ/g	100 γ/g
Hypothalamus	14.9 ± 2.0	11.32 ± 3.5		*7.8 ± 2.4*	8.9 ± 1.3	10.9 ± 4.0	*11.74 ± 1.1*	12.7 ± 1.0	11.47 ± 4.1
Nucl. lentiform.	13.0 ± 2.5	7.68 ± 1.6		13.2 ± 1.6	15.7 ± 2.8	10.4 ± 2.2	*7.52 ± 0.97*	10.62 ± 1.1	17.32 ± 5.8
Thalamus	13.7 ± 2.6	10.01 ± 2.5		11.3 ± 1.1	12.38 ± 3.5	10.36 ± 2.5	*7.24 ± 2.2*	12.46 ± 0.89	17.0 ± 3.6
Gyrus postcentr.	11.7 ± 2.0	*4.87 ± 1.2*	10.1 ± 1.5	14.43 ± 1.9	7.58 ± 0.9	9.04 ± 1.8	*9.11 ± 1.9*	12.67 ± 0.5	11.32 ± 3.2
Gyrus praecentr.	11.9 ± 2.7	*5.91 ± 1.8*	11.6 ± 1.0	12.74 ± 3.7	11.56 ± 1.25	8.63 ± 2.0	*7.93 ± 1.5*	12.37 ± 0.9	13.32 ± 3.7
Nucl. caudat.	10.0 ± 1.8	*5.2 ± 1.6*	8.56 ± 0.7			7.8 ± 1.4	6.15 ± 1.7		11.52 ± 1.7
Kleinhirn	15.2 ± 2.0			13.21 ± 2.1	11.9 ± 2.8				

Die kursiv gesetzten Zahlen in der Tabelle sind diejenigen, deren Differenz zu den Kontrollen statistisch signifikant sind (P-wert kleiner als $0.1 < P < 0.05$).

in der überstehenden Flüssigkeit enthalten sind. Coperhaver u. Mitarb. sowie Hagen fanden auch den höchsten Gehalt an Histamin in der Mitochondrien von Hundleberzellen.

Tabelle 3. *Intracelluläre Verteilung der Histidindecarboxylase*

	S	M	N	H
Nucl. Lent.	2,3—0,6	7,7—1,06	5,3—0,8	15,3—1,8
Großhirnrinde	1,9—0,52	6,5—0,92	4,8—0,28	11,6—1,2

Jede Zahl ist der Durchschnittswert von sechs Versuchen und gibt die enzymatisch gebildete Histaminmenge in γ/g an. S, M, N und H repräsentieren die überstehende Flüssigkeit, Mitochondrienfraktion, Nuclearfraktion bzw. Homogenat.

Zusammenfassung

Es wurde die Histidindecarboxylase-aktivität verschiedener Gebiete des Zentralnervensystems beim Rind gemessen. Sie wurde dort überall gefunden, war aber am stärksten im Kleinhirn und am schwächsten im Corpus callosum. Sie ließ sich sowohl durch 100 γ/g *Morphin* und *Barbital* als durch 50 γ/g *Cardiazol* hemmen. 53,1 — 58% der Enzymaktivität fand sich in den Mitochondrien.

Literatur

Abood, L. G., and R. W. Gerard: J. Cell. a. Comp. Physiol. **43**, 379 (1954).
Abood, L. G., R. W. Gerard, J. Banks and R. D. Tschirgi: Amer. J. Physiol. **168**, 728 (1952).
Bloch, W., u. H. Pinösch: Biochem. Z. **288**, 292 (1936).
Coperhaver, J. H., M. E. Nagler and I. Goth: J. of Pharmacy a. Pharmacol. **109**, 401 (1953).
Crossland, J., and J. F. Mitchell: J. of Physiol. **129**, 19p (1953); **132**, 391 (1956).
v. Euler, U. S.: CibaFoundation Symposium on Histamine, London: Churchill 1956, S. 235.
Florey, E., u. H. McLennan: Naturwissenschaften **42**, 561 (1955).
Harpur, R. P., and J. H. Quastel: Nature (Lond.) **164**, 779 (1949).
Hebb, C. O., and A. Silber: J. of Physiol. **134**, 718 (1956).
Holtz, Pl., u. E. Westermann: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **227**, 538 (1956).
Holtz, P., u. R. Heise: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **186**, 377 (1937).
Koppanyi, T., J. M. Dille and S. Krop: J. of Pharmacy a. Pharmacol. **52**, 121 (1934).
Kwiatkowski, H.: J. of Physiol. **102**, 32 (1943).
Nagano, H.: Fol. pharmacol. Jap. **52**, 570 (1956) [Japanisch].
Schneider, W. C., A. Claude and G. H. Hodgeboom: J. of Biol. Chem. **172**, 451 (1948).
Schuler, W., u. R. Meier: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **223**, 171 (1954).
Trendelenburg, U.: Ciba Foundation Symposium on Histamine, London: Churchill 1956, S. 238.
Werle, E.: Ciba Foundation Symposium on Histamine, London: Churchill 1956, S. 264.

Prof. Dr. Kaname Kuriaki, Pharmakologisches Institut der Medizinischen Schule Nippon, 59 Sendagicho, Bunkyo-ku, Tokyo, Japan

Arch. exper. Path. u. Pharmakol., Bd. 232, S. 487—498 (1958)

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Greifswald

Die quantitative Bestimmung des Prothrombins durch Titration mit Hirudin

Von
FRITZ MARKWARDT

Mit 4 Textabbildungen

(Eingegangen am 10. August 1957)

Prothrombin kann nicht auf chemischem Wege bestimmt werden. Die Bestimmungsverfahren müssen sich daher auf die biologische Wirkung des Stoffes stützen. Da er diese erst nach seiner Aktivierung zum Thrombin entfaltet, ist man gezwungen, aus der Aktivität des entstandenen Thrombins auf die ursprünglich vorhandene Prothrombinmenge zu schließen. Dementsprechend wird als eine Einheit Prothrombin diejenige Menge Prothrombin definiert, die eine Einheit Thrombin liefert.

Die quantitative Prothrombinbestimmung hat also die vollständige Umwandlung des vorhandenen Prothrombins in Thrombin zur Voraussetzung und erfordert eine genaue Aktivitätsmessung der entstandenen Thrombinmenge.

Wie die neuere Gerinnungsforschung lehrt, muß bei dieser Art der analytischen Ermittlung des Prothrombingehaltes auf verschiedene Punkte Rücksicht genommen werden.

1. Die Aktivierung des Prothrombins zum Thrombin ist nicht allein von der Thrombokinase und dem Calcium abhängig, sondern wird auch durch Acceleratoren (Faktor V und Faktor VII) und Inhibitoren (Antithrombokinase) beeinflußt.

2. Durch die Wirkung der Antithrombine des Blutes kann ein Teil des Thrombins der Bestimmung entzogen werden.

3. Die Messung der koagulierenden Aktivität des Thrombins erfordert eine peinliche genaue Konstanthaltung der Reaktionsbedingungen, da die Gerinnungszeit, welche als Maß für die Thrombinaktivität benutzt wird, von verschiedenen Milieufaktoren (p_H, Temperatur, Kolloidgehalt, Elektrolytkonzentration) beeinflußt wird.

Aus den genannten Gründen ist die Bestimmung des wahren Prothrombingehaltes im Blut schwierig und umständlich. Sie erfordert die Ausschaltung aller störenden Einflüsse bei der Thrombinentstehung

und -wirkung. Es ist daher lohnend, nach einer einfacheren Methode zu suchen.

Bei der im folgenden beschriebenen Methode machten wir uns die spezifische Eigenschaft des blutgerinnungshemmenden Wirkstoffes Hirudin zunutze. Es handelte sich beim Hirudin um ein hochmolekulares Polypeptid, welches aus medizinischen Blutegeln in reiner Form isoliert werden kann [Markwardt (1)]. Die Untersuchungen des Wirkungsmechanismus des Stoffes [Markwardt (2), (3)] hatten gezeigt, daß er mit dem Thrombin eine stöchiometrisch gut definierte Additionsverbindung bildet, wodurch die katalytische Aktivität des Fermentes erlischt. Die Wirksamkeit des Hirudins kann demnach in Antithrombineinheiten (AT.-E.) angegeben werden, wobei eine AT.-E. derjenigen Menge Hirudin entspricht, welche die Wirkung einer N.I.H.[1]-Einheit Thrombin aufhebt.

Da die Reaktion zwischen Hirudin und Thrombin mit großer Geschwindigkeit erfolgt und stöchiometrisch verläuft, konnte das Hirudin zur quantitativen Bestimmung des Thrombins benutzt werden [Markwardt (4)]. Diese Bestimmung beruht auf folgendem Prinzip: Eine mit Hirudin versetzte Fibrinogenlösung bleibt auf steigenden Zusatz von Thrombin solange ungeronnen, bis alles Hirudin an Thrombin gebunden und dadurch neutralisiert ist. Schon ein geringer Überschuß an Thrombin aber macht sich infolge der großen Umsatzgeschwindigkeit des Fermentes innerhalb weniger Sekunden an der Umwandlung des Fibrinogens in Fibrin bemerkbar. Der „Neutralpunkt" (Titrationsendpunkt) kann daher an der Gerinnung der Probe erkannt werden.

Dieses Prinzip läßt sich auch für die quantitative Erfassung des im Blut entstehenden Thrombins ausnutzen. Dabei wurde von folgender durch die vorhergehenden Befunde begründeten Vorstellung ausgegangen: In einer mit Hirudin versetzten Blutprobe wird das aus dem Prothrombin entstehende Thrombin vom Hirudin gebunden und dadurch inaktiviert. Sobald durch diese Reaktion alles zugesetzte Hirudin verbraucht ist, wird — wie soeben erwähnt — jedes weitere entstehende Thrombinmolekül seine Aktivität entfalten und die Fibrinbildung auslösen. Ist die anwesende Hirudinmenge größer als es dem äquivalenten Verhältnis zur Thrombinmenge entspricht, welche maximal aus dem vorhandenen Prothrombin gebildet werden kann, so bleibt die Probe ungeronnen. Das überschüssige Hirudin kann dann durch nachträgliche Zugabe von Thrombin bis zum „Neutralpunkt", d. h. bis zur Gerinnung der Probe titriert werden. Sofern für eine vollständige Umwandlung des Prothrombins in Thrombin gesorgt ist, ergibt sich also die Möglichkeit, eine quantitative Prothrombinbestimmung durchzuführen.

[1] National Institutes of Health.

Untersuchung der Reaktionsbedingungen

Die Bindung des Hirudins durch das in der Blutprobe entstehende Thrombin wird im folgenden als „Hirudinneutralisation" bezeichnet.

Materialien

Thrombokinaselösung wurde nach Quick aus getrocknetem Kaninchenhirn hergestellt. Zur Inaktivierung von anhaftenden Acceleratorspuren wurde der Extrakt 30 min auf 55° C erhitzt. Das *Acceleratoren*präparat wurde von der Hoffmann-La Roche AG als Reagens Ro 1-8977 zur Verfügung gestellt. Es wird durch Lyophylisieren von fibrinogen- und prothrombinfreiem Rinderplasma gewonnen. Die 10%ige Lösung enthält im Vergleich zu menschlichem Plasma über 1000% Faktor V und etwa 200% Faktor VII. *Fibrinogenlösungen* wurden aus

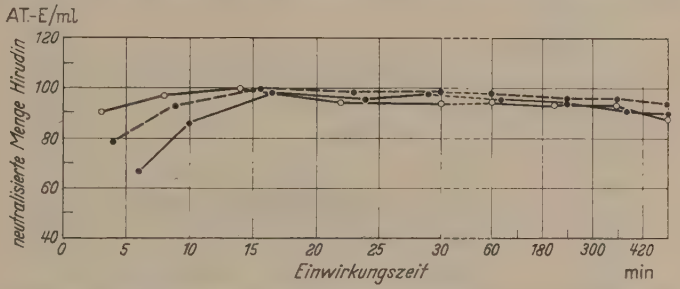


Abb. 1. Einfluß von Temperatur und Thrombokinasekonzentration auf die Hirudinneutralisation. • — — • = a 10 ml menschliches Blut sofort nach der Entnahme mit 3000 AT.-E. Hirudin und 5,0 ml Thrombokinaselösung gemischt und bei 20° im Thermostaten aufbewahrt. Nach verschiedenen Zeitabständen wurden je 0,3 ml entnommen und das nicht verbrauchte Hirudin mit Thrombinlösung zurücktitriert. • —— • = b Thrombokinaselösung 1:1 verdünnt, sonst wie Ansatz a. o —— o = c Aufbewahrung bei 37° C, sonst wie Ansatz a

Fibrinogen-Behring mit 0,9%iger NaCl-Lösung bereitet. *Heparinlösungen* wurden aus Liquemin (Hoffmann-La Roche AG) hergestellt. Die Herstellung der *Hirudin-* und *Thrombinlösungen* wird unter „Beschreibung der Bestimmungsmethode" ausführlich beschrieben.

Einfluß der Einwirkungszeit, der Temperatur und der Thrombokinasekonzentration auf die Hirudinneutralisation

Die Hirudinneutralisation kann nur bei Umwandlung des gesamten Prothrombins in Thrombin als Maß für den Prothrombingehalt gelten. Die vollständige Aktivierung des Prothrombins muß daher erst abgewartet werden, bevor mit der Titration des restlichen, nicht verbrauchten Hirudins begonnen werden kann. Um diesen Zeitpunkt zu erfassen, wurde der zeitliche Verlauf der Hirudinneutralisation im Blut verfolgt, indem nach verschiedenen Zeitabständen die jeweils noch nicht neutralisierte Menge des vorgelegten Hirudins durch Zugabe von Thrombin zurücktitriert wurde. Außerdem wurde versucht, die Prothrombinumwandlung durch Veränderung der Einwirkungstemperatur und der Thrombokinasekonzentration zu beeinflussen. (Versuchsbeispiel Abb. 1).

Es ergab sich, daß die Hirudinneutralisation bei Zimmertemperatur nach 20 min beendet ist. Die Erhöhung der Temperatur auf 37° C und die Veränderung der Thrombokinasekonzentration haben nur einen Einfluß auf die Geschwindigkeit der Prothrombinumwandlung und damit der Hirudinneutralisation, nicht aber auf die neutralisierte Hirudinmenge. Nach etwa 30 min ist in jedem Falle der Endwert erreicht und bleibt über einen längeren Zeitraum konstant.

Einfluß von Acceleratoren auf die Hirudinneutralisation

Um sicherzustellen, daß bei einem Zusatz von Thrombokinase bei 20° C nach 30 min bereits eine 100%ige Umwandlung des Prothrombins

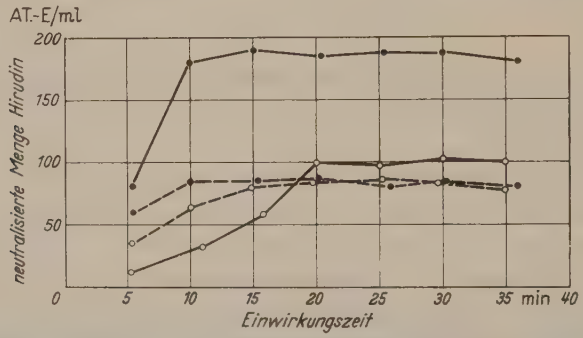


Abb. 2. Einfluß der Acceleratoren auf die Hirudinneutralisation. *Faktor V-Mangelplasma:* Menschliches Citratplasma 48 Std bei 37° C unter Zusatz eines Kriställchens Thymol aufbewahrt. *Faktor-VII-Mangelplasma:* Citratplasma einer Versuchsperson, die vorher mit 2-Phenylindandion (1,2) behandelt worden war. Prothrombinzeit auf 20% abgesunken. Je 5 ml Plasma mit 2000 Antithrombin E. Hirudin, 2,5 ml Thrombokinaselösung und 5,0 ml 10%iger Acceleratorlösung in m/40 $CaCl_2$-Lösung bzw. reiner $CaCl_2$-Lösung versetzt und bei 20° C aufbewahrt. Nach verschiedenen Zeitabständen wurden jeweils 0,5 ml entnommen und die Hirudinneutralisation durch Titration mit Thrombin gemessen. o——o = Faktor-V-Mangelplasma ohne Acceleratorzusatz. •——• = Faktor-V-Mangelplasma mit Acceleratorzusatz. o— — o = Faktor VII-Mangelplasma ohne Acceleratorzusatz. •— — • = Faktor VII-Mangelplasma mit Acceleratorzusatz

in Thrombin erreicht wird, wurde ferner versucht, die Prothrombinumwandlung durch Zusatz von Acceleratoren (Faktor V und VII) und Calcium soweit als möglich zu beschleunigen. Im normalen Blut von Menschen und den untersuchten Versuchstieren (siehe Tab. 3) ergab sich dabei keine Erhöhung der nach 30 min durch Hirudinneutralisation gemessenen Prothrombinwerte.

Bei gerinnungsgestörtem Blut wäre noch folgendes zu beachten: Verschiedene Autoren (Übersicht bei Deutsch) sind der Ansicht, daß die Acceleratoren nicht nur die Umwandlung des Prothrombins beschleunigen, sondern auch die Menge des gebildeten Thrombins beeinflussen. In Blutproben mit einem Mangel an Acceleratoren könnte daher zu wenig Prothrombin umgewandelt und damit die neutralisierte Menge Hirudin vermindert werden, was zu einer Täuschung

über den wirklichen Prothrombingehalt führen würde. Aus diesem Grunde wurde der Verlauf der Hirudinneutralisation in einem durch Alterung an Faktor V verarmten Plasma und in einem Faktor-VII-Mangel-Plasma verfolgt und die Bestimmungen nach Zusatz der fehlenden Faktoren wiederholt. Aus den in Abb. 2 dargestellten Versuchsergebnissen ist zu ersehen, daß es bei Faktor V-Mangel neben einer Verlängerung der Umwandlungszeit zu einer nur unvollständigen Prothrombinumwandlung kommt, die nach Zusatz von Acceleratoren

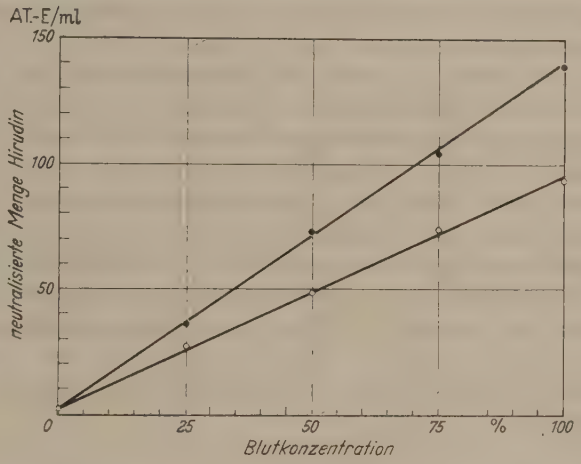


Abb 3. Abhängigkeit der Hirudinneutralisation von der Prothrombinmenge. o——o = a Frisch entnommenes menschliches Blut mit 300 AT.-E. Hirudin/ml versetzt und mit 0,5%iger Fibrinogenlösung auf 25,50 und 75% verdünnt. Je 0,2 ml wurden nach der in der Arbeitsvorschrift angegebenen Weise titriert. •——• = b wie a mit einem Zusatz von 50 E gereinigten Prothrombins je ml Blut

normalisiert wird. Faktor VII-Mangel verursacht dagegen nur eine Verzögerung der Thrombinbildung, hat aber keinen Einfluß auf die entstehende Thrombinmenge.

Um das Prothrombin in Blutproben mit Faktor V-Mangel (z. B. bei Parahämophilie) quantitativ zu bestimmen, muß daher Faktor V zugesetzt werden. Im normalen Blut und bei Faktor VII-Mangel kann auf einen Acceleratorzusatz verzichtet werden, da sich die aus dem entstandenen Thrombin erschlossenen Prothrombinwerte nach genügend langer Einwirkungszeit angleichen.

Abhängigkeit der Hirudinneutralisation von der Prothrombinmenge

Die Abhängigkeit der Hirudinneutralisation vom Prothrombingehalt des Blutes wurde an einer Verdünnungsreihe normalen menschlichen Blutes mit und ohne Zusatz von Prothrombin geprüft. Wie die in Abb. 3 dargestellten Ergebnisse zeigen, ist die neutralisierte Menge Hirudin der vorhandenen Prothrombinmenge proportional.

Die Wirkung des Antithrombins auf die Hirudinneutralisation

Da bei der Prothrombinbestimmung die vollständige Umwandlung des Prothrombins in Thrombin abgewartet wird, ist das gebildete Thrombin — allerdings in Form des sich sofort bildenden Hirudin-Thrombinkomplexes — längere Zeit den Antithrombinen ausgesetzt. Dabei könnte insbesondere das metathrombinbildende Serum Antithrombin (Antithrombin III Seegers) zur Auswirkung gelangen, indem es das Thrombin in eine unwirksame Form umwandelt und dadurch der Reaktion mit Hirudin entzieht, was zu einer Verfälschung der ermittelten Prothrombinwerte führen müßte. Es war also zu prüfen, ob das bereits an Hirudin gebundene Thrombin vom Antithrombin noch beeinflußt werden kann und dadurch seine Bindungsfähigkeit für Hirudin verliert. Nach den Untersuchungen über den zeitlichen Verlauf der Hirudinneutralisation (Abb. 1) ist dieser Vorgang an sich schon unwahrscheinlich, da die neutralisierte Hirudinmenge nach Erreichung eines Maximums über lange Zeit konstant bleibt. Es wurde jedoch die Wirkung des Antithrombins nochmals in einer speziellen Versuchsanordnung geprüft.

Zu diesem Zweck wurde sowohl das freie Thrombin als auch Thrombin in Verbindung mit Hirudin der Wirkung des Antithrombins in der von Seegers empfohlenen Versuchsanordnung ausgesetzt und danach die Aktivität des Thrombins durch Messung seiner Bindungsfähigkeit für Hirudin ermittelt.

Tabelle 1. *Die Wirkung des Serum-Antithrombins auf freies Thrombin und Thrombin-Hirudinverbindung*

Ansatz	A		B		C
	Hirudin AT.-E	Thrombin N.I.H.-E	Hirudin AT.-E	Thrombin N.I.H.-E	Verbrauchte Menge Thrombin N.I.H.-E
1	30	20	—	—	10,5
2	—	20	30	—	28,0
3	30	—	—	20	10,0

Versuchsanordnung: Als Antithrombinlösung diente hitzedefibriniertes Citratplasma (3 min auf 56°C erhitzt, dann zentrifugiert). Je 0,2 ml dieser Lösung wurden mit den in Spalte A angegebenen Mengen Hirudin und Thrombin versetzt. Nach 2stündiger Inkubation bei 28° C wurden die unter B angegebenen Mengen Hirudin und Thrombin hinzugefügt und die Proben nach Zugabe von 0,3 ml 1%iger Fibrinogenlösung in üblicher Weise mit Thrombinlösung bis zur Gerinnung titriert. Dabei wurden die in Spalte C angegebenen Mengen Thrombin verbraucht.

Wie an der zur nachträglichen Neutralisation erforderlichen Menge Thrombin ersichtlich ist, wird das freie Thrombin (Ansatz 2) zu 90% inaktiviert und kann dementsprechend nur noch 2,0 AT.-E Hirudin neutralisieren. An Hirudin gebundenes Thrombin (Ansatz 1) wird vom

Antithrombin nicht mehr erfaßt. Zur Neutralisation wird auch nach der Einwirkung des Antithrombins nur so viel Thrombin verbraucht, wie für die restliche freie Hirudinmenge erforderlich ist.

Der Einfluß des Heparins auf die Hirudinneutralisation

Bei Prothrombinbestimmungen in heparinisiertem Blut macht sich die Hemmung der Thrombinbildung und -wirkung durch Heparin störend bemerkbar. Bei der Bestimmung mit Hirudin wird weniger Hirudin neutralisiert und dementsprechend mehr Thrombinlösung zur Erzeugung des Umschlages bei der Titration verbraucht, als es der tatsächlich vorhandenen Prothrombinmenge entspricht. Es wurde deshalb versucht, die Heparinwirkung durch Zusatz von Protamin auszuschalten, welches bekanntlich mit Heparin eine unlösliche Verbindung bildet. Wie das Versuchsbeispiel (Tab. 2) zeigt, läßt sich die Störung der Prothrombinbestimmung auf diesem Wege beseitigen. Die Protaminzugabe muß allerdings entsprechend der vorhandenen Heparinmenge dosiert werden. Zur Neutralisation von 100 IE Heparin wird ungefähr 1 mg Protamin benötigt. Ein zu großer Protaminüberschuß hemmt die Gerinnung.

Tabelle 2. *Neutralisation der Heparinwirkung durch Protamin*

Ansatz	Heparin IE	Protamin mg	Verbrauchte Menge Thrombin N.I.H.-E
1	—	—	9,5
2	1,0	—	14,0
3	1,0	0,01	9,2
4	—	0,01	9,0

Versuchsansatz: Es wurde der Prothrombingehalt von je 0,2 ml frisch entnommenen menschlichen Blutes nach Zusatz von 30 AT.-E Hirudin in der in der Arbeitsvorschrift angegebenen Weise bestimmt. Heparin (= 0,05 ml einer 20 IE ml enthaltenden Lösung) wurde vor und Protamin (= 0,05 ml 0,02%ige Protaminsulfatlösung) nach dem Thrombokinasezusatz hinzugefügt.

Beschreibung der Bestimmungsmethode

Prinzip der Methode

Frisch entnommenes Blut wird mit Hirudin im Überschuß gemischt. Durch Zusatz von Gewebsthrombokinase wird eine vollständige Umwandlung des Prothrombins zum Thrombin bewirkt, welches mit Hirudin reagiert. Danach wird durch stufenweise Zugabe einer standardisierten Thrombinlösung bis zur Gerinnung der Probe das nicht verbrauchte Hirudin zurücktitriert.

Reagentien

Hirudin. *a) Herstellung des Hirudinpräparates.* Die Isolierung des Hirudins in reiner Form, wie wir sie unter Anwendung chromatographischer und elektrophoretischer Methoden erreichten, ist nicht ohne größeren Arbeitsaufwand durchführbar. Zum Zwecke der Thrombin- und Prothrombinbestimmung ist auch ein vorgereinigtes haltbares Präparat brauchbar. Falls ein derartiges Präparat nicht erreichbar ist, kann man es verhältnismäßig einfach nach folgender Vorschrift herstellen:

Über 1,5 g schwere Blutegel (Hirudo medicinalis), welche seit 3 Monaten nicht gesogen haben und sich nicht in Eikapselbildung befinden, werden durch Einlegen in 96%iges Äthanol getötet. Nach 24 Std werden die Vorderenden durch einen Schnitt etwa 5 mm vor der vorderen (männlichen) Geschlechtsöffnung von den Egelkörpern abgetrennt und nochmals 24 Std in absolutem Äthanol aufbewahrt. Danach werden die 10—5 mm langen Kopfstücke möglichst fein zerkleinert und im Vakuumexsiccator vom Alkohol befreit. Das so gewonnene grobe Pulver wird mit der 10fachen Menge 40%igen Acetons 30 min bei 40° C unter häufigem Umrühren extrahiert, der Rückstand abzentrifugiert und nochmals 15 min mit der 5fachen Menge 40%igen Acetons extrahiert. Die Exrakte werden vereinigt, mit Essigsäure auf p_H 5,0 gebracht und der Niederschlag abzentrifugiert. Die klare Lösung wird mit 1,5% Trichloressigsäure versetzt und das Rohhirudin durch Zugabe des 10fachen Volumens eiskalten Acetons ausgefällt. Nach 1stündigem Absetzen wird zentrifugiert, der Niederschlag auf der Zentrifuge 2mal mit Aceton und 2mal mit Äther gewaschen und im Vakuumexsiccator getrocknet.

Das so gewonnene Rohhirudin besitzt im Durchschnitt eine Aktivität von 700 AT.-E je Milligramm Trockensubstanz. Die Ausbeute beträgt je nach Qualität der verwandten Tiere 0,5—1,0 mg je Blutegel.

b) Einstellung des Präparates. Das Hirudinpräparat wird mit der 10fachen Menge Milchzucker sorgfältig verrieben und eine genau gewogene Menge der Verreibung zu 0,2% in dest. Wasser gelöst. 0,1 ml dieser Lösung werden mit 0,2 ml Citratplasma versetzt und mit einer Lösung von Standardthrombin (100 N.I.H.-E/ml) in der unten beschriebenen Weise bis zur Gerinnung titriert. Die verbrauchte Menge Thrombin in N.I.H.-E gibt die in 0,1 ml der Lösung enthaltenen AT.-E an. Daraus läßt sich leicht die Aktivität des eingewogenen Präparates errechnen. Durch sorgfältige weitere Verreibung des gewonnenen Hirudins mit Milchzucker kann es auf 10 AT.-E je Milligramm verdünnt werden, so daß zum Gebrauch eine bestimmte Menge eingestellten Hirudins bequem abgewogen werden kann. Aufbewahrung möglichst kühl und trocken in dicht verschlossenen Gefäßen oder im Exsiccator.

Für die Einstellung des Hirudins ist genau standardisiertes Thrombin[1] zu verwenden. Ist man einmal im Besitze von standardisiertem Hirudin, so ist man von der weiteren Benutzung des Standard-Thrombins unabhängig, da nicht standardisierte Thrombinpräparate gegen Standard-Hirudin jederzeit eingestellt werden können (siehe unten). Das standardisierte Hirudin kann dann über Jahre hinaus für viele Thrombin- und Prothrombinbestimmungen verwandt werden.

c) Hirudinlösung. Standardisierte Hirudinverreibung wird zu 600 AT.-E/ml in dest. Wasser gelöst. Die Lösung hält sich bei Zusatz eines Kriställchens Thymol über 2 Monate.

---

[1] Wir haben unser Hirudin gegen Standard-Thrombin eingestellt, das uns von den National Intitutes of Health, Division of Biologics Standards freundlicherweise zur Verfügung gestellt wurde.

Thrombinlösung. Thrombin[1] wird in dest. Wasser zu 100 N.I.H-E/ml gelöst. Die Lösung ist nur begrenzt haltbar. Der Thrombingehalt der Lösung kann durch Titration gegen standardisiertes Hirudin kontrolliert werden. Zu diesem Zweck werden z. B. 10 AT.-E Hirudin in einem Reagensgläschen mit 0,2 ml Citratplasma versetzt und die Thrombinlösung in der unten beschriebenen Weise bis zur Gerinnung der Probe zugegeben. Bei genau auf 100 N.I.H.-E/ml eingestellter Thrombinlösung beträgt der Verbrauch an Lösung 0,1 ml. Schwächere oder stärkere Lösungen werden wie bei der Maßanalyse durch einen Faktor F korrigiert.

$$F = \frac{\text{vorgelegte Menge Hirudin AT.-E}}{\text{verbrauchte Menge Thrombinlösung in ml} \cdot 100}$$

Thrombokinaselösung. Als Thrombokinaselösung sind die für die Bestimmung der Prothrombinzeit (Thromboplastinzeit) im Handel befindlichen Gewebsthrombokinasepräparate in der für diese Bestimmung üblichen Konzentration brauchbar. Zu 9 Teilen der Lösung wird 1 Teil m/10 $CaCl_2$-Lösung zugesetzt.

Geräte

Reagensgläschen von 8 mm Durchmesser und 70 mm Länge. Wichtig ist die Beibehaltung der Größe der Reagensgläser sowie deren Reinigung mit möglichst heißem Wasser zur Beseitigung von Thrombinspuren.

Mikropipetten mit Marken bei 0,05, 0,1 und 0,2 ml.

Mikrobürette mit 0,2 ml Büretteninhalt. Sie ermöglicht die genaue Ablesung von 0,002 ml. Der Ausfluß der Bürette wird zweckmäßig lang ausgezogen und leicht abgebogen, so daß die anhängenden Tropfen an der Innenseite des Gläschens abgestreift werden können. Nötigenfalls kann die Thrombinlösung auch mittels einer Meßpipette hinzugegeben werden.

Arbeitsvorschrift

In einem Reagensgläschen werden zu 0,05 ml Hirudinlösung (enthaltend 30 AT.-E, bei höherem Prothrombingehalt wird entsprechend mehr Hirudin vorgelegt) genau 0,2 ml frisch entnommenes Blut (z. B. Capillarblut mit dem Schnepper gewonnen) und 0,1 ml Thrombokinaselösung pipettiert. Nach 30 min wird aus einer Mikrobürette Thrombinlösung bis zum Eintritt der Gerinnung zugesetzt.

Da die Gerinnung, welche als Indicator für einen Thrombinüberschuß benutzt wird, Zeit benötigt, kann man nicht wie bei den meisten chemischen Titrationen in einem Zuge bis zum Umschlagspunkt titrieren. Es werden vielmehr in Abständen von 1 min 0,01 ml Thrombinlösung (entsprechend 1 N.I.H.-E) zugesetzt. Ist die ungefähre Größe der zu verbrauchenden Thrombinlösung bekannt (z. B. bei Wiederholung der Titration oder nach orientierender Vortitration), so kann man zunächst größere Mengen in kurzer Zeit hinzugeben und die langsame Zugabe erst vor dem Umschlagspunkt beginnen. Nach jedem Thrombinzusatz wird die Probe sofort durch vorsichtiges Kippen gut durchgemischt. Man prüft die Gerinnung, indem man das Gläschen nach 1 min um etwa 80° kippt. Die Lösung gilt dann als geronnen, wenn sich ein einheitliches Gerinnsel gebildet hat und das Reagensglas um mehr als 90° gekippt werden kann, ohne daß das Blut ausfließt. Sind nur kleine nicht zusammenhängende Fibrinfäden zu sehen, so wird weiter titriert.

[1] Als solches sind die im Handel erhältlichen Thrombin-Präparate in Trockenampullen verwendbar.

Die verbrauchte Menge Thrombin in N.I.H.-E wird von der vorgelegten Menge Hirudin in AT.-E in Abzug gebracht. Man erhält so die aus dem Prothrombin im Blut entstandene Menge Thrombin und damit den Prothrombingehalt in N.I.H.-E.

$$Pt = Hi - T \cdot 100 \cdot F$$

Pt = Prothrombin in N.I.H.-E
Hi = Vorgelegte Menge Hirudin in AT.-E
T = Verbrauchte Menge Thrombin-Lösung in ml
F = Faktor der Thrombinlösung.

Bemerkungen

In Blutproben mit Faktor V-Mangel muß Faktor V zugesetzt werden, da die Prothrombinumwandlung sonst unvollständig verläuft und sich das vorhandene Prothrombin teilweise der Bestimmung entzieht. Im heparinisierten Blut muß das vorhandene Heparin durch Zusatz von Protamin neutralisiert werden. In Citratplasmen kann die Bestimmung nach dem Recalcifizieren in gleicher Weise wie mit Blut durchgeführt werden.

Genauigkeit der Prothrombinbestimmung mit Hirudin

Um den bei der Titration auftretenden Fehler zu erfassen, wurden 10 verschiedene Blutproben je 10mal nach der in der Vorschrift angegebenen Arbeitsweise ausgetestet. Die mittlere Abweichung s (Standardabweichung) betrug $\pm$ 0,6 N.I.H.-E.

Anwendungsbeispiele

a) Prothombinbestimmungen im Blute verschiedener Versuchstiere (Tab. 3). Aus der Zusammenstellung ist zu entnehmen, daß sich die untersuchten Tierarten in bezug auf den Prothrombingehalt ihres Blutes voneinander verhältnismäßig wenig unterscheiden. Bei einem Vergleich

Tabelle 3. *Normaler Prothrombingehalt im Blut einiger Säugetiere*

Tierart	Zahl der untersuchten Tiere	N.I.H.-E Prothrombin pro ml (Mittelwert)
Mensch	20	98
Kaninchen	25	122
Schwein	2	100
Rind	2	119
Schaf	2	107
Maus	10	85
Meerschweinchen .	4	95

mit anderen Angaben des Prothrombingehaltes in der Literatur muß beachtet werden, daß sich diese meist auf das Plasma, nicht auf das Gesamtblut beziehen.

b) Die Wirkung von 2-Phenyl-indandion-(1,2) auf den Prothrombingehalt des Blutes (Abb. 4). Durch Messung der Prothrombinzeit

(Thromboplastinzeit) wird bekanntlich nicht der wahre Prothombingehalt bestimmt, sondern das gemeinsame Verhalten von Prothrombin, Faktor V und VII erfaßt. Da Dicumarolderivate wie Phenylindandion neben einer Abnahme des Prothrombins vor allem eine starke Verminderung des Faktor VII-Gehaltes im Blut bewirken (KOLLER), sinkt die Prothrombinzeit im Vergleich zum Prothrombingehalt stärker und schneller ab.

Vorteile der Methode

Die beschriebene Methode zur Prothrombinbestimmung bietet gegenüber bisher bekannten Verfahren verschiedene Vorteile. Sie arbeitet mit nur 0,2 ml Gesamtblut, wodurch eine i.v. Entnahme größerer

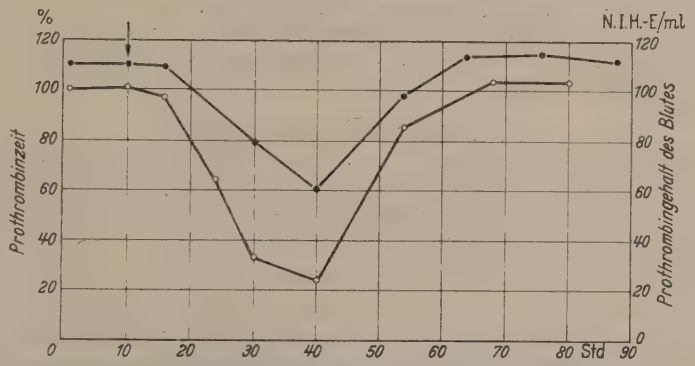


Abb. 4. Veränderungen des Prothrombingehaltes (gemessen durch Hirudinneutralisation) = •——• und der Prothrombinzeit (Thromboplastinzeit nach MARBET u. WINTERSTEIN) = o——o. Im Blut eines Kaninchens nach einmaliger Gabe → von 2-Phenyl-indandion-(1,2) 100 mg/kg per os (Schlundsonde)

Blutmengen und die Gewinnung des Plasmas entfällt. Veränderungen der Umwandlungsgeschwindigkeit des Prothrombins verursachen keine Störung der Messung. Faktoren und Substanzen, welche die koagulierende Aktivität des Thrombins beeinflussen, können nur innerhalb der geringen, zur Erzeugung des Umschlages notwendigen Thrombinmenge zur Auswirkung gelangen und sind daher — unter Berücksichtigung der Fehlerbreite der Methode — ohne Einfluß auf das Meßergebnis. Auf die Benutzung eines Thermostaten, die Verwendung von Thrombokinasepräparaten mit konstanter Aktivität und standardisierten Fibrinogenlösungen kann also verzichtet werden. Die Methode erlaubt ferner, daß die entnommenen Blutproben zu einem beliebigen Zeitpunkt innerhalb 6 Std titriert werden. Sie ermöglicht die Angabe des Prothrombingehaltes in N.I.H.-E., wodurch sich die Aufstellung von Eichkurven und die Verwendung eines bei gesunden Personen oder Versuchstieren ermittelten Normalwertes als Bezugswert erübrigt.

Die Einstellung des Hirudinstandards erfordert besondere Sorgfalt. Dies ist jedoch ein einmaliger Arbeitsgang.

Zusammenfassung

Auf der Grundlage der Reaktion zwischen Hirudin und Thrombin wird eine Methode zur quantitativen Bestimmung des Prothrombins entwickelt. Der Einfluß verschiedener Faktoren auf den Ablauf der Bestimmung wird untersucht. Es werden Beispiele für die Anwendung der Methode gegeben.

Literatur

Deutsch, E.: Blutgerinnungsfaktoren. Wien: Deuticke 1955.

Koller, F., A. Loeliger and F. Duckert: Acta haematol. (Basel) **6**, 1 (1951).

Marbet, R., u. A. Winterstein: Helv. physiol. Acta **11**, 81 (1952).

Markwardt F.: (1) Z. physiol. Chem. **308**, 147 (1957).

Markwardt F.: (2) Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **229**, 389 (1956).

Markwardt F.: (3) Naturwissenschaften **43**, 111 (1956).

Markwardt F.: (4) Arch. Pharmaz. **290/62**, 280 (1957).

Seegers, W. H., K. D. Miller, E. B. Andrews and R. C. Murphy: Amer. J. Physiol. **169**, 700 (1952).

Doz. Dr. Fritz Markwardt, Greifswald,
Pharmakologisches Institut der Universität, Friedrich-Loeffler-Str. 23 d

Arch. exper. Path. u. Pharmakol., Bd. 232, S. 499—506 (1958)

Aus der Medizinischen Forschungsabteilung der F. Hoffmann-La Roche & Co. A.G., Basel

Benzo[a]chinolizine, eine neue Körperklasse mit Wirkung auf den 5-Hydroxytryptamin- und Noradrenalin-Stoffwechsel des Gehirns

Von

A. Pletscher, H. Besendorf und H. P. Bächtold

Mit 3 Textabbildungen

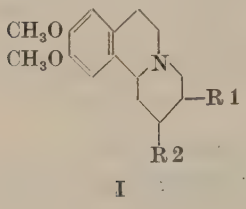
(Eingegangen am 14. September 1957)

Die Rauwolfia-Alkaloide mit sedativer Wirkung verursachen Abfall von 5-Hydroxytryptamin (5HT) und Noradrenalin (NA) im Gehirn, sowie vermehrte Urinausscheidung von 5-Hydroxyindolessigsäure (5HIES), dem hauptsächlichsten Abbauprodukt von 5HT[4,5,8,9,10]. Durch Isopropyl-isonicotinsäurehydrazid (Iproniazid), eine Substanz, welche die Monoaminoxydase hemmt, wird der Reserpin-bedingte Abfall von 5HT und NA im Gehirn vermindert[4,7]. Zugleich kommt es zu Abschwächung oder Veränderung von pharmakologischen Wirkungen des Reserpins[1]. Bisher konnten keine anderen Pharmaka gefunden werden, durch deren Wirkung sowohl der NA- als auch der 5HT-Gehalt des Gehirns herabgesetzt wurde. Morphin verursacht bei der Katze Verminderung des NA-Gehaltes im Gehirn, ohne den 5HT-Gehalt zu verändern[9]. Amphetamin bewirkt in toxischer Dosis mäßige Verminderung des 5HT-Gehaltes im Gehirn des Hundes[6,9]. Bei andern Tierspecies konnte ein solcher Effekt nicht gefunden werden[3,9].

Verschiedene Beobachtungen sprechen dafür, daß Erniedrigung von 5HT- und NA-Gehalt im Gehirn Ursache für gewisse pharmakologische Wirkungen der zentral aktiven Rauwolfia-Alkaloide ist. Bisher fehlt jedoch der Beweis eines solchen Kausalzusammenhanges. Für die weitere Abklärung der Funktion endogener Monoamine im Gehirn ist es deshalb wichtig, Substanzen zu kennen, welche den Monoaminstoffwechsel des Gehirns beeinflussen und nicht zur Gruppe der Rauwolfia-Alkaloide gehören.

In der vorliegenden Arbeit wird über eine neue Gruppe von synthetischen Substanzen berichtet, die Erniedrigung von 5HT- und NA-Gehalt des Gehirns verursachen. Es handelt sich um folgende

Derivate des 1,2,3,4,6,7-Hexahydro-11b*H*-benzo[a]chinolizins (I) (Benzochinolizine*):



I

Ro 1-9569**	R 1 —$CH_2CH(CH_3)_2$	R 2 =O
Ro 1-9571	R 1 —$CH_2CH(CH_3)_2$	R 2 —OH
Ro 1-9138	R 1 —$CH_2CH_2CH_2CH_3$	R 2 =O
Ro 1-9288	R 1 —$CH_2CH_2CH_2CH_3$	R 2 —OH
Ro 4-0353	Stereoisomeres von Ro 1—9288	
Ro 1-9263	R 1 —$CH_2CH=CH_2$	R 2 =O

Methodik

Kaninchen, resp. Mäusen, mit und ohne Iproniazid-Vorbehandlung, wurden Benzochinolizine und als Vergleich Reserpin injiziert. In verschiedenen Zeitintervallen nach diesen Injektionen erfolgte Messung von 5HT und NA im Gehirn. Bei Kaninchen wurde ferner die 5HIES-Ausscheidung im Urin 4 Std vor und 4 Std nach Injektion von Ro 1-9569 bestimmt.

Die Messung von 5HT und NA im Gehirn erfolgte spektrophotofluorimetrisch nach Extraktion[2,11], diejenige von 5HIES im Urin colorimetrisch[12].

Für die Messung der narkosepotenzierenden Wirkung erhielten Mäuse von 16—20 g Benzochinolizine, resp. Reserpin, und verschiedene Zeitintervalle später 4 g/kg Äthanol. Diese Äthanol-Dosierung bewirkte bei Kontrolltieren eine mittlere Schlafdauer von einer Minute. Ein Teil der Tiere wurde 16 Std vor der Applikation von Benzochinolizinen, resp. Reserpin, mit Iproniazid behandelt, ein anderer Teil hatte keine solche Vorbehandlung. Kriterium für die narkotische Wirkung war die Dauer der passiven Seitenlage der Tiere.

Bei Kaninchen von 2—3 kg erfolgte 16 Std nach Applikation von 100 mg/kg Iproniazid Injektion von Benzochinolizinen, resp. Reserpin. Kaninchen, die lediglich Benzochinolizine oder Reserpin und kein Iproniazid erhalten hatten, dienten als Kontrollen. Bei allen Tieren wurde die rectale Temperatur mittels Thermoelementen zweimal vor und siebenmal nach Zufuhr von Benzochinolizinen, resp. Reserpin halbstündlich gemessen und der Durchschnittswert vor und nach Applikation dieser Pharmaka angegeben***.

---

* Die Präparate wurden hergestellt von Dr. O. Schnider und Dr. A. Brossi, Chem. Forschungsabteilung der F. Hoffmann-La Roche & Co. AG. Eine vorläufige Mitteilung über Beeinflussung des 5HT-Stoffwechsels durch Ro 1-9569 wurde in Science **126**, 507 (1957) publiziert (A. Pletscher: Release of 5-hydroxytryptamine by benzoquinolizine derivatives with sedative action).

** Sachbezeichnung „Tetrabenazin".

*** Die Messung von Körpertemperatur und narkosepotenzierender Wirkung wurde im pharmakologischen Laboratorium (Leitung Dr. B. Pellmont) der F. Hoffmann-La Roche & Co. AG. durchgeführt.

Resultate

1. Verschiedene Benzochinolizin-Derivate bewirkten Abfall von 5HT- und NA-Konzentration im Gehirn. Wirkungsdauer und -intensität der einzelnen Derivate waren verschieden. Das Verhalten der 5HT-Konzentration nach Applikation der verschiedenen geprüften Derivate war nicht wesentlich verschieden von demjenigen von NA (Abb. 1 u. 2).

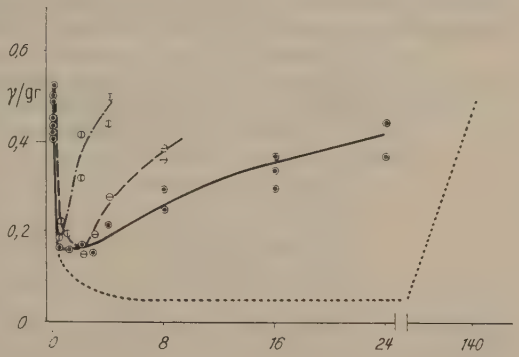


Abb. 1. Verhalten der 5-Hydroxytryptamin-Konzentration im Kaninchenhirn nach i.v. Applikation verschiedener Benzochinolizin-Derivate zur Zeit 0. Abszisse: Zeit in Stunden, Ordinate: 5-Hydroxytryptamin-Konzentration im Gesamthirn in γ/g. —— 40 mg/kg Ro 1-9569; — — — 30 mg/kg Ro 1-9571; — · — · — 30 mg/kg Ro 1-9288; . . . . . 2 mg/kg Reserpin (Vergleich). Jeder Meßpunkt bedeutet den Durchschnittswert von Bestimmungen in zwei Hirnhälften eines Tieres

2. Unter den bisher dargestellten Derivaten zeigte Ro 1-9569 die längste Wirkungsdauer. Maximale 5HT- und NA-Depression wurde mit 20 bis 40 mg/kg erreicht. Für Reserpin war diese Dosis 10—20mal geringer. Nach Ro 1-9569 dauerte die 5HT- und NA-Depression 15—20 Std, nach 1 bis 5 mg/kg Reserpin 3 bis 7 Tage. Der maximal erreichbare 5HT- und NA-Abfall war nach Ro 1-9569 geringer als nach Reserpin (Abb. 1 u. 2).

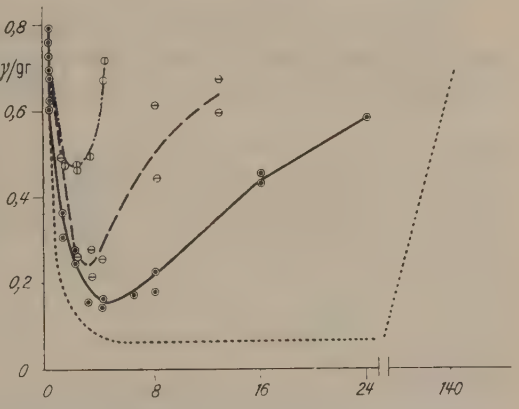


Abb. 2. Verhalten der Noradrenalin-Konzentration im Kaninchenhirn nach i.v. Applikation verschiedener Benzochinolizin-Derivate zur Zeit 0. Abszisse: Zeit in Stunden, Ordinate: Noradrenalin-Konzentration im zentralen Gebiet des Hirnstamms in γ/g. ——— 40 mg/kg Ro 1-9569; — — — 30 mg/kg Ro 1-9571; — · — · — 30 mg/kg Ro 1-9288; . . . . . 2 mg/kg Reserpin (Vergleich). Jeder Meßpunkt bedeutet den Durchschnittswert von Bestimmungen in zwei Hälften des zentralen Hirnstammgebietes eines Tieres

3. Die Ausscheidung von 5HIES im Urin während der ersten 4 Std nach Injektion von Ro 1-9569 bei Kaninchen war 181 ± 40% höher als während einer 4stündigen Kontrollperiode vor Applikation des Präparates (16 Versuche). Diese Erhöhung ist signifikant ($p < 0{,}01$). Die Schwankungsbreite der 5HIES-Ausscheidung in zwei aufeinanderfolgenden Vierstundenperioden ohne Medikation von

Ro 1-9569 betrug $-25 \pm 9{,}5\%$ (zweite Periode bezogen auf erste) (13 Versuche).

4. Durch Vorbehandlung mit Iproniazid wurde die durch Ro 1-9569 bedingte Abnahme von 5HT und NA im Gehirn abgeschwächt. Diese Abschwächung war für 5HT deutlicher als für NA (Tab. 1).

Tabelle 1. *Abschwächung des 5-Hydroxytryptamin- und Noradrenalin-Abfalles im Gehirn von Kaninchen nach Vorbehandlung mit 100 mg/kg Iproniazid (i.v.) 16 Std vor i.v. Injektion von Ro 1-9569*

	Ohne Iproniazid-Vorbehandlung			Vorbehandlung mit Iproniazid			Signifikanz
	Kontrolle	3 Std nach 40 mg/kg Ro 1-9569	% Abfall	Kontrolle	3 Std nach 40 mg/kg Ro 1-9569	% Abfall	
5-Hydroxy-tryptamin	0,49 ± 0,02 (22)*	0,18 ± 0,015 (5)	65 ± 8,1 I	1,05 ± 0,05 (9)	0,88 ± 0,03 (5)	16 ± 3,0 II	I : II $p < 0{,}01$ III : IV $p < 0{,}01$
Noradrenalin	0,71 ± 0,04 (9)	0,20 ± 0,01 (4)	72 ± 1,4 III	1,12 ± 0,07 (5)	0,60 ± 0,07 (6)	46 ± 6,2 IV	II : IV $p < 0{,}01$

* Zahl der Tiere.

5. Benzochinolizine bewirkten Sedation und Potenzierung der Äthanolnarkose. Hypnotische Wirkung kam auch nach großen Dosen nicht zustande. Die Narkose-potenzierende Wirkung erreichte das Maximum

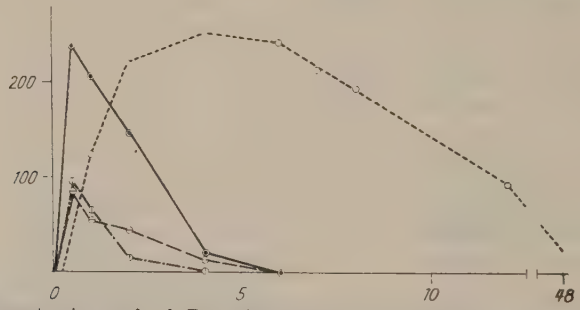


Abb. 3. Narkosepotenzierung durch Benzochinolizin-Derivate bei Mäusen. In verschiedenem Zeitintervall nach s. c. Applikation von Benzochinolizinen wurde 4 g/kg Äthanol i.p. injiziert. Abszisse: Zeitintervall in Stunden zwischen Benzochinolizin- und Äthanol-Applikation. Ordinate: Narkosedauer in Minuten. ——— 40 mg/kg Ro 1-9569; — — — 30 mg/kg Ro 1-9571; —·—·— 30 mg/kg Ro 1-9288; - - - - 2 mg/kg Reserpin (Vergleich). Jeder Meßpunkt bedeutet die durchschnittliche Narkosedauer von je 20 Tieren

rascher und war von kürzerer Dauer als nach Reserpin (Abb. 3). Intensität und Dauer der Narkosepotenzierung sowie der 5HT-Abnahme gingen parallel (Tab. 2).

6. Narkosepotenzierung und sedative Wirkung von Ro 1-9569 wurden durch Vorbehandlung mit Iproniazid herabgesetzt oder aufgehoben (Tab. 3).

Tabelle 2. *5-Hydroxytryptamin-Abfall und Narkosepotenzierung nach Injektion verschiedener Benzochinolizin-Derivate und Reserpin bei Mäusen.* Die Dosis der Benzochinolizine betrug $^1/_4$ DL 50 Maus i.v.

Präparat	Dosis mg/kg	Narkose-potenzierung	5HT-Freisetzung
Ro 1-9569 . .	40	59,0*	57,0*
Ro 1-9571 . .	30	13,6	9,9
Ro 1-9138 . .	40	11,4	5,8
Ro 1-9288 . .	30	10,7	5,6
Ro 4-0353 . .	15	8,5	0,9
Reserpin . .	1	322,0	203,0

* Die Zahlen bedeuten Planimeter-Einheiten für die Fläche, welche von den Zeitkurven und der Null-Linie begrenzt ist.

Tabelle 3. *Abschwächung der durch Ro 1-9569 bedingten Potenzierung der Äthanolnarkose nach Vorbehandlung mit 100 mg/kg Iproniazid (Mäuse).* Zeitintervall zwischen s.c.-Injektion von Iproniazid und Ro 1-9569: 16 Std, zwischen s.c.-Injektion von Ro 1-9569 und Äthanol i.v.: 30 min

Dosis Ro 1-9569 mg/kg	Durchschnittliche Narkosedauer (je 10 Tiere)		Signifikanz
	ohne Iproniazid	Vorbehandlung mit Iproniazid	
10	126	1	$p < 0{,}01$
20	207	14	$p < 0{,}01$

Tabelle 4. *Steigerung der Körpertemperatur durch Benzochinolizine und Reserpin nach Iproniazid-Vorbehandlung sowie Wirkung dieser Substanzen auf den 5HT-Gehalt im Gehirn ohne Iproniazid-Vorbehandlung (Kaninchen).* I.v. Applikation von 100 mg/kg Iproniazid 16 Std bevor i.v. Injektion von Benzochinolizinen, resp. Reserpin. Die Dosis der Benzochinolizine betrug $^1/_4$ DL50 Maus

Präparat	Dosis mg/kg	Maximaler Temperaturanstieg nach Iproniazid-Vorbehandlung (°C)	Maximale 5HT-Depression ohne Iproniazid-Vorbehandlung (% des Ausgangs-Wertes)
Ro 1-9569	40,0	> 3,0 †	70
Ro 1-9571	30,0	> 3,0 †	75
Ro 1-9288	30,0	0,8	60
Go 1-9263	75,0	1,5	45
Ro 4-0353	15,0	0,8	40
Ro 1-9138	40,0	1,1	45
Reserpin	1,0	> 3,0 †	85

7. Verschiedene Benzochinolizine verursachten bei Kaninchen Abfall der Körpertemperatur (—0,15 bis —2,1°C). Nach Vorbehandlung mit

Iproniazid erzeugten diese Derivate Hyperthermie, Mydriasis, Piloerektion und Excitation. Diejenigen Präparate, welche ohne Iproniazid-Vorbehandlung den größten 5HT-Abfall bewirkten (Ro 1-9569 und Ro 1-9571), hatten dabei den stärksten hyperthermen Effekt (Tab. 4).

Diskussion

Die Benzochinolizine sind neben den Rauwolfia-Alkaloiden eine zweite Gruppe von Pharmaka, welche Abnahme von 5HT und NA im Gehirn sowie vermehrte Ausscheidung von 5HIES verursacht.

Der Abnahme von 5HT und NA scheint zum Teil ein ähnlicher Wirkungsmechanismus zugrunde zu liegen wie bei Reserpin, denn der Abfall kann in beiden Fällen durch Iproniazid gehemmt werden. Auch in bezug auf pharmakologische Wirkung besteht Ähnlichkeit zwischen Benzochinolizinen und Reserpin. Beide Stoffklassen erzeugen Sedation ohne Hypnose sowie Potenzierung der Äthanolnarkose. Diese Wirkungen werden durch Vorbehandlung mit Iproniazid abgeschwächt oder aufgehoben. Bei Kaninchen verursachen Benzochinolizine und Reserpin nach Iproniazid-Vorbehandlung nicht mehr Sedation mit Miosis und Hypothermie, sondern Erregung, Mydriasis, Piloerektion und Hyperthermie. Im Unterschied zu Reserpin ist der Wirkungseintritt der Benzochinolizine rascher, die Wirkungsdauer kürzer.

Die Frage, ob die Veränderung von 5HT- und NA-Gehalt des Gehirns Ursache für gewisse pharmakologische Wirkungen der Benzochinolizine ist, kann nicht mit Sicherheit entschieden werden. Es könnte sich hierbei auch um zwei Wirkungsqualitäten der Benzochinolizine handeln, die nicht ursächlich miteinander verknüpft sind. Für einen kausalen Zusammenhang sprechen folgende Befunde:

a) Alle zur Zeit bekannten Pharmaka (Reserpin, Deserpidin, Rescinamin, Benzochinolizine), welche den 5HT- und NA-Gehalt des Gehirns erniedrigen, haben ähnliche pharmakologische Wirkungen auf das ZNS (Sedation ohne Hypnose, Narkosepotenzierung).

b) Es besteht Parallelität zwischen Verhalten der biochemischen und pharmakologischen Veränderungen. Die pharmakologischen Wirkungen von Reserpin sind von langer, diejenigen der Benzochinolizine von kurzer Dauer. Dasselbe gilt für die Wirkung dieser Verbindungen auf den Stoffwechsel von 5HT und NA. Ferner zeigt sich innerhalb der Gruppe der Benzochinolizine ein Zusammenhang zwischen Quantität von pharmakologischer und biochemischer Veränderung (Tab. 2).

c) Iproniazid, das im Tierversuch keine ausgeprägte pharmakologische Wirkung zeigt, vermindert oder verändert pharmakologische Effekte der Benzochinolizine auf das ZNS. Diese Eigenschaft hängt möglicherweise damit zusammen, daß Iproniazid die durch Benzochinolizin bedingte

Veränderung des 5HT- und NA-Stoffwechsels im Gehirn beeinflußt. Abschwächung von Narkosepotenzierung und sedativer Wirkung der Benzochinolizine durch Iproniazid bei Mäusen könnte z. B. infolge Verminderung des 5HT- und NA-Abfalles zustande kommen.

Die Veränderung der pharmakologischen Wirkungen der Benzochinolizine nach Iproniazid bei Kaninchen ist schwieriger zu interpretieren. Möglicherweise hemmt Iproniazid den Abbau von Monoaminen, die durch Benzochinolizine teilweise freigesetzt wurden. Dadurch käme es zu einem unphysiologisch hohen Gehalt von Monoaminen im ZNS, was die beschriebenen Wirkungen erklären könnte (s. auch [1]).

Es bleibt zur Zeit ungeklärt, ob die pharmakologische Wirkung der Benzochinolizine mehr auf Veränderung des 5HT- oder des NA-Stoffwechsels zurückzuführen ist.

In vorläufigen klinischen Untersuchungen konnte gezeigt werden, daß auch beim Menschen die Wirkungen von Benzochinolizinen auf das ZNS qualitativ ähnlich denjenigen von Reserpin sind[13].

Summary

Various new synthetic derivatives of 1,2,3,4,6,7-hexahydro-benzo[a]-quinolizine have been described. These substances show the following biological properties:

a) In animals they cause a decrease in the brain content of 5-hydroxytryptamine (5HT) and norepinephrine (NA). The intensity and duration of action of the various derivatives are different, but less than in the case of reserpine.

b) The urinary excretion of 5-hydroxyindole acetic acid is increased by about 200% after administration of Ro 1-9569, the compound with the longest duration of action in the series.

c) Various benzoquinolizine derivatives cause sedation without hypnosis, and potentiation of ethanol narcosis in mice.

d) After pretreatment with iproniazid the benzoquinolizine-induced decrease of 5HT and NA in brain as well as the benzoquinolizine-induced potentiation of ethanol narcosis in mice is diminished. In rabbits after pretreatment with iproniazid the benzoquinolizines no longer cause sedation, miosis and hypothermia, but muscular tremor, piloerection, mydriasis and hyperthermia.

e) There is a parallelism between biochemical alterations and pharmacological actions after administration of various benzoquinolizine derivatives and reserpine.

The benzoquinolizines are a second class of drugs which, like the centrally acting rauwolfia alkaloids, cause depression of 5HT and NA in brain, as well as sedation without hypnosis.

Literatur

[1] Besendorf, H., u. A. Pletscher: Beeinflussung zentraler Wirkungen von Reserpin und 5-Hydroxytryptamin durch Isonicotinsäurehydrazide. Helvet. physiol. Acta **14**, 383 (1956).

[2] Bogdansky, D. F., A. Pletscher, B. B. Brodie and S. Udenfriend: Identification and assay of serotonin in brain. J. Pharmacol. a. Exper. Ther. **117**, 82 (1956).

[3] Brodie, B. B., P. A. Shore and A. Pletscher: Serotonin-releasing activity limited to rauwolfia alkaloids with tranquillizing action. Science (Lancaster, Pa.) **123**, 992 (1956).

[4] Carlsson, A., E. Rosengren, A. Bertler and J. Nilsson: Effect of reserpine on the metabolism of catechol amines. Mitteilung am Symposium internazionale sui farmaci psicotropi, Mailand, Mai 1957.

[5] Holzbauer, M., and M. Vogt: Depression by reserpine of the noradrenaline-concentration in the hypothalamus of the cat. J. of Neurochem. **1**, 8 (1956).

[6] Paasonen, M. K., and M. Vogt: The effect of drugs on the amounts of substance P and 5-hydroxytryptamine in mammalian brains. J. of Physiol. **131**, 617 (1956).

[7] Pletscher, A.: Beeinflussung des 5-Hydroxytryptaminstoffwechsels im Gehirn durch Isonicotinsäurehydrazide. Experientia (Basel) **12**, 479 (1956).

[8] Pletscher, A., P. A. Shore and B. B. Brodie: Serotonin as a mediator of reserpine action in brain. J. Pharmacol. a. Exper. Ther. **116**, 84 (1956).

[9] Shore, P. A., and B. B. Brodie: Influence of various drugs on serotonin and norepinephrine in brain. Mitteilung am Symposium internazionale sui farmaci psicotropi, Mailand, Mai 1957.

[10] Shore, P. A., S. L. Silver and B. B. Brodie: Interaction of reserpine, serotonin and lysergic acid diethylamide in brain. Science (Lancaster, Pa.) **122**, 284 (1955).

[11] Shore, P. A., and J. S. Olin: Identification and chemical assay of norepinephrine in brain and other tissues. J. Pharmacol. a. Exper. Ther., (im Druck).

[12] Udenfriend, S., E. Titus and H. Weissbach: The identification of 5-hydroxy-3-indole acetic acid in normal urine and a method for its assay. J. of Biol. Chem. **216**, 499 (1955).

[13] Voelkel, A.: Klinische Wirkung von Pharmaka mit Einfluß auf den Monoaminstoffwechsel des Gehirns. Mitteilung am 2. Internationalen Psychiatriekongreß, Zürich, September 1957.

Dr. A. Pletscher, Dr. H. Besendorf und Dr. H. P. Bächtold,
Medizinische Forschungsabteilung der F. Hoffmann-La Roche & Co. AG.,
Basel/Schweiz

Arch. exper. Path. u. Pharmakol., Bd. 232, S. 507—521 (1958)

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Göttingen
(Direktor: Prof. Dr. L. Lendle)

Analyse der erregenden und lähmenden Wirkung von Alkylphosphaten (Parathion, Paraoxon, Systox) am isolierten Kaninchendarm

Von
W. D. Erdmann und D. Heye

Mit 4 Textabbildungen

(Eingegangen am 19. September 1957)

Die Alkylphosphate sind hochwirksame Hemmstoffe für die Cholinesterase. Das Bild einer Alkylphosphatvergiftung entspricht daher weitgehend dem einer „endogenen Acetylcholinvergiftung" mit muscarinartigen und nicotinartigen Vergiftungserscheinungen. Durch Atropin werden eine Reihe von Vergiftungssymptomen, und zwar die vegetativen und zum Teil auch die motorischen *Erregungen* beseitigt; die *lähmenden Wirkungen* der Alkylphosphate dagegen lassen sich durch Atropingaben nicht verhüten oder beeinflussen. Es liegt somit nahe anzunehmen, daß diese lähmenden Wirkungen bei Alkylphosphatvergiftungen nicht Folge einer Cholinesterase-Hemmung, sondern Auswirkungen anderer Mechanismen sind. Man hat auch an die Eigenwirkung einer bei der Bindung des Phosphorsäureesters an das Enzym freiwerdenden Spaltproduktes, wie z. B. des p-Nitrophenols im Falle einer Vergiftung mit Parathion (vgl. Enders 1952a u. b) gedacht.

Die übliche Behandlung der Alkylphosphatvergiftung mit Atropin ist natürlich eine rein *symptomatische*, allerdings spezifische Therapie. Die Ursache der Vergiftung, die Enzymblockade, bleibt dabei bestehen, zumal die spontane Reaktivierung der blockierten Cholinesterase ein sehr langsam verlaufender Prozeß ist. Neuerdings sind nun von Nachmansohn, Wilson u. ihren Mitarb. (Übersicht bei Nachmansohn 1955, Kewitz 1957) die Möglichkeiten einer *kausalen* Vergiftungsbehandlung, nämlich einer Reaktivierung der blockierten (= phosphorylierten) Cholinesterase eingehend geprüft worden. Es wurde eine Reihe von Substanzen gefunden, die auf Grund bestimmter chemischer und physikalischer Eigenschaften (Löslichkeit, Ladungscharakter, Affinität zu Phosphoryl usw.) geeignet sind, den Phosphorsäurerest vom Ferment abzulösen. Am wirksamsten erwiesen sich hierbei das nicotinhydroxamsaure Methjodid (NHMJ) sowie neuerdings das 2-Pyridinaldoximmethjodid (PAM).

Da sich auch am isolierten, überlebenden Kaninchendarm die erregenden und lähmenden Wirkungen der Alkylphosphate zeigen lassen,

erschien uns dieses übersichtliche Präparat geeignet, mit Hilfe antagonistischer Versuche Wirkungsweise und Angriffsort für die erregende und lähmende Komponente der Alkylphosphate zu klären.

Methodik

Für die Versuche wurden etwa 3 cm lange, überlebende Dünndarmstücke von frisch getöteten Kaninchen in der Versuchsanordnung nach Magnus verwendet. Gelegentlich wurden auch bis zu 30 Std alte Präparate, die bis zur Verwendung im Eisschrank gelagert waren, in besonders gekennzeichneten Versuchen benutzt.

Die Darmpräparate wurden in ein mit 25 cm^3 Ringer-Lösung gefülltes und belüftetes Gefäß eingehängt. Die Badtemperatur betrug 37,5° C. Die zu prüfenden Stoffe wurden in abgemessenen Mengen geeigneter Lösungen in das Badgefäß zugegeben. Die angegebenen Konzentrationen beziehen sich auf die Endkonzentrationen im Bade. Zur Kontrolle der Empfindlichkeit des Präparates wurden vor und nach jedem Versuch Testkontrakturen mit Doryl (= Carbaminoylcholin) durchgeführt.

Folgende Phosphorsäureester wurden geprüft: *Der Diäthylthiophosphorsäureester des p-Nitrophenols*[1] (Parathion, E 605). Der Wirkstoff wurde 1%ig in absolutem Alkohol gelöst und zum Gebrauch mit Adhägon[2] (0,25%)-Ringer-Lösung weiterverdünnt.

Der Diäthylphosphorsäureester des p-Nitrophenols[1] (Paraoxon, E 600). Der Wirkstoff wurde 10%ig in absolutem Alkohol gelöst und zum Gebrauch mit Aqua dest. oder Ringer-Lösung weiterverdünnt.

Der Diäthylthiophosphorsäureester des Äthylthioglykols[1] (Systox, E 1059). Der Wirkstoff wurde 10%ig in absolutem Alkohol gelöst und zum Gebrauch mit Aqua dest. oder Ringer-Lösung weiterverdünnt.

Ergebnisse

Die Eigenwirkungen von E 600 (Paraoxon), E 605 (Parathion) und E 1059 (Systox) auf den nicht vorbehandelten Darmstreifen sind einander ähnlich. Auch die wirksamen Konzentrationen liegen in der gleichen Größenordnung: In Konzentrationen ab $2—4 \cdot 10^{-8}$ bewirken alle drei Stoffe eine Steigerung von Automatie und Tonus. Bei Versuchen mit E 600 — und nur hier! — kommt es dabei zu rhythmischen, peristaltischen Tonusschwankungen, auf die später näher eingegangen werden soll. In Konzentrationen ab $6 \cdot 10^{-6}$ bis $6 \cdot 10^{-5}$ werden Pendelbewegungen und Tonus gelähmt.

Bei der Prüfung auf Reversibilität dieser Eigenwirkungen (wiederholtes Auswechseln der Badflüssigkeit gegen frische Ringer-Lösung) zeigen sich gewisse Unterschiede zwischen den untersuchten E-Präparaten: *Erregende wie lähmende Wirkungen von E 605 sind völlig reversibel, während es bei Auswaschversuchen von E 600 und Systox in jedem Falle zu extrem starker Darmerregung kommt* (vgl. z. B. Abb. 1).

---

[1] Für die Überlassung der Alkylphosphate sowie der weiter unten erwähnten spezifischen Antidote NHMJ und PAM danken wir Herrn Prof. Dr. med. et phil. W. Wirth sowie Herrn Dr. G. Schrader.

[2] Adhägon (Chem. Fabrik von Heyden, München) ist ein indifferentes Eiweißabbauprodukt und als Stabilisator für feindisperse Suspensionen geeignet.

Der deutliche Unterschied im Konzentrationsbereich für erregende und lähmende Wirkungen der geprüften Alkylphosphate gibt die Möglichkeit, beide Wirkungskomponenten unabhängig voneinander zu untersuchen.

A. Analyse der erregenden Wirkungskomponente der Alkylphosphate

Im Hinblick auf die bekannten cholinesterasehemmenden Eigenschaften der Alkylphosphate liegt es nahe, die darmerregenden Wirkungen der geprüften Phosphorsäureester als Folgeerscheinungen der in diesen Konzentrationen zweifellos blokkierten Cholinesterase (Ch.E.) zu betrachten.

Für andere Alkylphosphate (TEPP, HETP, DFP) sowie für Eserin und Prostigmin haben Salerno u. Coon (1949) eine gute Übereinstimmung zwischen esterasehemmenden und darmerregenden Konzentrationen gefunden. Auch die darmerregenden Konzentrationen der von uns geprüften E-Präparate sind geeignet, die Esterase des Darmes zu hemmen, wie aus einem Vergleich mit den von Wirth (1953) angegebenen Werten für die 50%ige Hemmung der Rattenhirnesterase hervorgeht.

Abb. 1. Abhängigkeit der erregenden und lähmenden Wirkungen von der einwirkenden Konzentration eines Alkylphosphates. Nach Auswaschen extreme Erregung

Es soll im folgenden mit pharmakologischen Methoden untersucht werden, ob die durch Alkylphosphate ausgelöste und wohl mit einer Ch.E.-Hemmung parallelgehende Darmerregung ursächlich und ausschließlich auf diese Fermentblockade zurückgeführt werden kann. Hierzu seien jeweils einige theoretische Erwägungen vorangestellt.

1. Dosis-Wirkungsbeziehungen. Bekanntlich ist die Ch.E. (im Verhältnis zu ihrem Substrat) in den verschiedenen Organen in großem Überschuß vorhanden. Biologische Folgen einer Fermenthemmung sind daher meistens erst dann zu erwarten, wenn bereits der größte Teil des vorhandenen Enzyms blockiert ist (vgl. auch Nachmansohn 1955, Kewitz u. Nachmansohn 1957, Kewitz 1957), da vorher

keine nachhaltige Acetylcholin (A.Ch.)-Anreicherung im Gewebe zustande kommen kann. Im isolierten Darmstück sind Ch.E. und A.Ch. (bzw. dessen Vorstufen) natürlich nur in begrenzter Menge vorhanden; mit restitutiven oder substitutiven Prozessen (wie eventuell im Gesamtorganismus) wird man — zumal bei Verwendung der die Ch.E. praktisch irreversibel hemmenden Alkylphosphate — wohl nicht zu rechnen haben. Es wäre demnach zu erwarten, daß sich eine durch völlige Blockade der Darmesterase ausgelöste Darmerregung durch weiteren Zusatz der Ch.E.-hemmenden Stoffe nicht mehr steigern läßt, vorausgesetzt, daß die untersuchten Substanzen selbst keine erregenden Eigenwirkungen besitzen.

Entsprechend durchgeführte Versuche bestätigten diese Überlegungen: die geprüften E-Präparate führen in Konzentrationen ab etwa $1 \cdot 10^{-7}$ zu sehr starker Darmerregung, die sich bei Erhöhung der Alkylphosphatkonzentration um das 10- oder 100fache nicht weiter steigern läßt[1], sondern schließlich in eine Darmlähmung übergeht (siehe oben, vgl. auch Abb. 1).

2. Atropin-Antagonismus. Aus den unter A. 1. dargelegten Überlegungen und Versuchen geht hervor, daß bei einer Variation der Alkylphosphatkonzentrationen um das 10-, 100- oder 1000fache vermutlich nur wenig A.Ch. *mehr* konserviert wird, als es schon bei der wirksamen Grenzkonzentration der Fermenthemmer der Fall war. Es müßte also stets die gleiche Atropinkonzentration genügen, um die durch die jeweilige Alkylphosphatkonzentration ausgelöste Darmerregung aufzuheben (sogenannter „nicht-paralleler Antagonismus" im Gegensatz zu dem „parallel gleitenden Antagonismus" etwa zwischen Doryl oder Acetylcholin und Atropin).

Tab. 1 zeigt die Ergebnisse der antagonistischen Versuche. Es wurden mit verschiedenen Konzentrationen von E 600, E 605 oder E 1059 Darmerregungen ausgelöst und durch tropfenweise Zugabe von Atropin. sulf. diejenige Atropinkonzentration ermittelt, die diese Erregung eben aufzuheben vermag. Die Versuche wurden an frischen Darmstreifen durchgeführt.

Aus Tab. 1 geht hervor, daß zwischen den geprüften E-Präparaten und Atropin kein „parallel gleitender" Antagonismus besteht, da die innerhalb eines Konzentrationsbereiches von 3 Zehnerpotenzen ($2 \cdot 10^{-8}$ bis $3{,}2 \cdot 10^{-5}$) durch Alkylphosphate auslösbaren Darmerregungen durch praktisch gleiche Atropinkonzentrationen ($1—4 \cdot 10^{-8}$) aufzuheben sind. Es ist dies ein Hinweis darauf, *daß die durch E 600, E 605 und Systox ausgelösten Darmerregungen ursächlich auf eine Hemmung der Ch.E. zurückzuführen sind.*

Vergleicht man die bei den einzelnen E-Präparaten antagonistisch wirksamen Atropinkonzentrationen miteinander (bei E 605 und Systox $1 \cdot 10^{-8}$, bei E 600 meistens $4 \cdot 10^{-8}$), so scheint E 600 ein spezifischerer Hemmstoff für die Esterase

[1] Es wäre hier kritisch einzuwenden, daß es vielleicht schon in niederen Konzentrationsbereichen zu maximaler A.Ch.-Kontraktur kam, so daß etwa weiterhin freigemachte A.Ch.-Mengen einfach keine stärkeren Wirkungen mehr entfalten können. Gegen eine solche Annahme sprechen allerdings Befunde, wie sie aus Abb. 1 hervorgehen, sowie die unter 2. usw. beschriebenen Versuchsergebnisse.

zu sein, weil bei E 605 und Systox die lähmende Wirkungskomponente stärker hervortritt als bei E 600 (vgl. auch die Grenzkonzentrationen für beginnende Lähmung, Tab. 1).

Tabelle 1. *Antagonistisch wirksame Grenzkonzentrationen von Atropin gegen die durch E 600, E 605 oder Systox ausgelösten Darmerregungen*

Darmerregende Konz. von E 600, E 605 oder Systox	Antagonistisch wirksame Grenzkonzentration von *Atropin. sulf.*		
	gegen E 600	gegen E 605	gegen Systox
$1 \cdot 10^{-8}$	—	$1 \cdot 10^{-8}$	—
$2 \cdot 10^{-8}$	$1 \cdot 10^{-8}$	—	$1 \cdot 10^{-8}$
$4—5 \cdot 10^{-8}$	$2 \cdot 10^{-8}$	$1 \cdot 10^{-8}$	$1 \cdot 10^{-8}$
$8 \cdot 10^{-8}$	$2 \cdot 10^{-8}$	—	$1 \cdot 10^{-8}$
$1 \cdot 10^{-7}$	$2 \cdot 10^{-8}$	$1 \cdot 10^{-8}$	—
$1 \cdot 10^{-6}$	$4 \cdot 10^{-8}$	$1 \cdot 10^{-8}$	$1 \cdot 10^{-8}$
$2 \cdot 10^{-6}$	$4 \cdot 10^{-8}$	—	$1 \cdot 10^{-8}$
$5 \cdot 10^{-6}$	$4 \cdot 10^{-8}$	$1 \cdot 10^{-8}$	$1 \cdot 10^{-8}$
$8 \cdot 10^{-6}$	$4 \cdot 10^{-8}$	—	„L“
$1—1{,}6 \cdot 10^{-5}$	$4 \cdot 10^{-8}$	„L“	„L“
$2—3{,}2 \cdot 10^{-5}$	$2 \cdot 10^{-8}$	„L“	—
$4—6{,}4 \cdot 10^{-5}$	„L“	„L“	—

„L“ = bei diesen Alkylphosphatkonzentrationen wurde das Präparat gelähmt. Die Lähmung war durch Atropin nicht aufzuheben.

Als „Gegenprobe“ zu den Ergebnissen der Tab. 1 wurde nach Vorgabe verschiedener Atropinmengen zur Badflüssigkeit versucht, diese „Atropinisierung“ mit Alkylphosphaten zu durchbrechen. Auch hierbei trat der „nicht-gleitende“ Antagonismus deutlich hervor. Atropinkonzentrationen von $4 \cdot 10^{-8}$ verhüteten schließlich jede sonst durch die E-Präparate auslösbare Darmerregung. Die darmlähmenden Eigenwirkungen zeigten sich wiederum im oben angegebenen Konzentrationsbereich.

3. Versuche über etwaige esteraseunabhängige Eigenwirkungen. Zur Prüfung, ob die darmerregenden Wirkungen der Alkylphosphate ausschließlich auf eine Hemmung der Cholinesterase zurückzuführen sind, schien folgende Versuchsanordnung geeignet:

Die Cholinesterase wurde durch eine sicher blockierende Konzentration Eserin ($3—4 \cdot 10^{-6}$) ausgeschaltet, gleichzeitig die resultierende Erregung des Darmstreifens mit Atropin ($6 \cdot 10^{-8}$) aufgehoben. Nach dieser Vorbehandlung zeigt der isolierte Darmstreifen eine *normale Automatie*. Wenn man jetzt der Badflüssigkeit (ohne Auswaschen!) steigende Konzentrationen der Alkylphosphate (z. B. E 600, vgl. Abb. 2) zusetzt, so müßten alle etwa noch auftretenden Wirkungen esteraseunabhängig sein, da dieses Ferment ja bereits durch Eserin blockiert ist. Es zeigten sich lediglich lähmende Eigenwirkungen (vgl. Abb. 2), und zwar in den gleichen Konzentrationsbereichen wie bei den nicht vorbehandelten Präparaten.

Es läßt sich nach diesen Versuchen allerdings lediglich sagen, daß die durch die Alkylphosphate bewirkte Darm*lähmung* esteraseunabhängig ist; eine etwa esteraseunabhängige Darm*erregung* wäre durch die angewandte Atropinkonzentration ($6 \cdot 10^{-8}$) sicher verhindert, weil sie parasympathicomimetischen Charakter trägt (vgl. Tab. 1).

Mehrmaliges Waschen mit Ringer-Lösung führt in Fortsetzung dieses Versuches nicht wie sonst zu extremer Darmerregung, sondern läßt eine

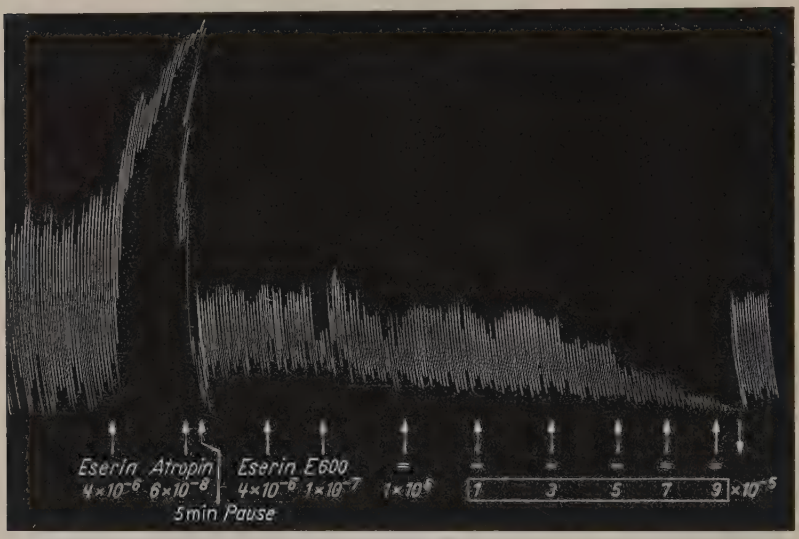


Abb. 2. An mit Eserin und Atropin vorbehandelten Darmstreifen besitzt E 600 nur lähmende Wirkungen. Nach Auswaschen normale Automatie. Vgl. hierzu Abb. 1

normale Automatie bestehen (vgl. Abb. 2). Man kann hieraus schließen, daß sämtliche verabreichten Substanzen unter diesen Bedingungen ausgewaschen wurden.

Die „Auswaschbarkeit" von Atropin und auch von Eserin ist ja durchaus geläufig, nicht aber die von E 600 (vgl. S. 3). Es wird dies jedoch verständlich, wenn man bedenkt, daß eine „irreversible Phosphorylierung" der Esterase durch das Alkylphosphat gar nicht stattfinden konnte (Eserinschutz!). Alle esteraseunabhängigen Eigenwirkungen von E 600 sind demnach auswaschbar, was auch theoretisch einleuchtet, da die „Phosphorylierung" nach Wilson nur an den sogenannten esteratischen Reaktionsstellen stattfindet. Überraschend ist allerdings die Tatsache, daß das Alkylphosphat nicht „paraesteratisch" im Gewebe fixiert worden war, wie nach den Erfahrungen von Nachmansohn (1955) zu erwarten gewesen wäre. Es hätte ja sonst eine nachträgliche Esteraseblockierung hervortreten müssen.

Nachdem mit der oben beschriebenen Versuchsanordnung der Nachweis esteraseunabhängiger darmerregender Eigenwirkungen von E 600 nicht gelungen war, versuchten wir mit Hilfe spezifischer Antagonisten, insbesondere mit PAM, die durch die Alkylphosphate (Paraoxon) blockierte Cholinesterase des Darmstreifens in vitro zu reaktivieren. Alle

esterasebedingten Wirkungen müßten dabei verschwinden und die durch PAM nicht beeinflußbaren Wirkungen wären als esteraseunabhängige Paraoxoneffekte anzusehen.

In Vorversuchen wurden zunächst die Eigenwirkungen von PAM (sowie NHMJ) ermittelt. In Grenzkonzentrationen ab $4 \cdot 10^{-5}$ besitzt PAM (sowie NHMJ) gewisse erregende Wirkungen auf Darmtonus und -motilität, in Grenzkonzentrationen ab $1 \cdot 10^{-3}$ (NHMJ: $6 \cdot 10^{-4}$) wird das Präparat gelähmt. Alle Wirkungen sind leicht auswaschbar.

Es wurden mit Alkylphosphaten Darmerregungen ausgelöst und durch Zugabe von PAM (bzw. NHMJ) diejenige Konzentration ermittelt, die diesen Effekt soeben aufzuheben vermag. In Konzentrationen ab $6 \cdot 10^{-5}$ besitzt PAM eine deutliche antagonistische Wirkung (während mit NHMJ Konzentrationen von $1—3 \cdot 10^{-4}$ benötigt werden). Dabei sinkt der erhöhte Tonus augenblicklich auf das normale Niveau herab und die rhythmischen Pendelbewegungen werden wieder regelmäßig. Wird PAM anschließend mit Ringer-Lösung ausgewaschen, so tritt zunächst wieder eine verstärkte Erregung hervor. Nur bei genügend langer Einwirkungsdauer von PAM (oder nach mehrmaligem Spülen mit PAM-Ringer in entsprechender Konzentration) bleibt nach Auswaschen eine normale Automatie bestehen (vgl. Abb. 3). Man könnte aus diesen Versuchen schließen, daß E 600 *keine* esteraseunabhängigen Eigenwirkungen besitzt. Hierzu muß aber kritisch folgendes gesagt werden:

Das Phänomen, daß die antagonistische Wirkung von PAM gegen die durch Alkylphosphate ausgelösten Darmerregungen nur dann nachhaltig ist, wenn PAM über eine gewisse Zeit einwirken konnte, bedarf einer Erklärung. Man denkt dabei natürlich zunächst an etwa paraesteratisch gebundene Paraoxon-Mengen, die nach Auswaschen von PAM erneut die Esterase blockieren könnten. In vorangegangenen Versuchen (vgl. Abb. 2 sowie S. 512) hatte sich jedoch gezeigt, daß solche paraesteratischen Mechanismen praktisch bedeutungslos sind. Folglich muß es sich bei der Sofortwirkung und bei der Spätwirkung von PAM um grundsätzlich verschiedene Vorgänge handeln: Die Sofortwirkung wäre als atropinartige Wirkung, die Spätwirkung als echte esterasereaktivierende Wirkung (Reaktivierungszeit!) von PAM zu deuten. In der Tat besitzt PAM in der verwendeten Konzentration eine echte atropinartige Wirkung, indem Doryl- oder Acetylcholin-Testkontrakturen aufgehoben werden, wie sich in Parallelversuchen zeigen ließ (vgl. hierzu auch Bethe, Erdmann, Lendle u. Schmidt 1957).

In ergänzenden Versuchen am isolierten Kaninchendarm haben wir festgestellt, daß der Antagonismus zwischen Doryl oder Acetylcholin und PAM „parallel gleitend" ist: Zur Aufhebung der Wirkungen einer doppelten, vierfachen usw. Menge des Parasympathicomimetikums bedarf es der doppelten, vierfachen usw. Menge von PAM. In diesem Verhalten stimmt PAM durchaus mit den Eigenschaften von Atropin überein. In der Tat addieren sich die parasympathicolytischen Wirkungen von PAM und Atropin. Dies wurde in einer weiteren Versuchsreihe unter Berücksichtigung der (verschiedenen!) Dosenwirkungskurven von PAM und Atropin ermittelt (noch unveröffentlichtes Material).

Die atropinartige Wirkung von PAM ist natürlich geeignet, die durch Alkylphosphate ausgelöste Darmerregung symptomatisch aufzuheben,

und zwar unabhängig davon, ob diese Erregung Folge der Ch.E.-Hemmung oder Folge einer direkt parasympathicomimetischen Eigenwirkung ist. Auch mit Hilfe der spezifischen Antagonisten NHMJ und PAM läßt sich also die Frage, ob die Alkylphosphate esteraseunabhängige darmerregende Eigenwirkungen besitzen, noch nicht entscheiden.

4. Angriffspunkt. Nach den unter 2. und 3. durchgeführten Untersuchungen ist für die durch die Alkylphosphate ausgelösten Darmerregungen vor allem die irreversible Esterasehemmung verantwortlich,

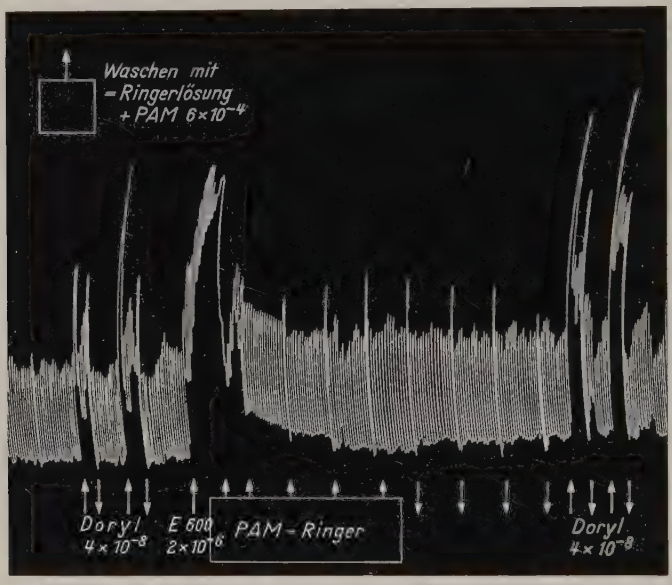


Abb. 3. Erregende Wirkungen von E 600 lassen sich nur bei längerer Einwirkung von PAM aufheben. Nach Auswaschen normale Automatie

auch wenn sich nicht ganz ausschließen läßt, daß die Alkylphosphate daneben geringe direkt erregende Eigenwirkungen besitzen. Es entsteht die Frage nach der Lokalisation der für die Darmerregung verantwortlichen Esterasehemmung. In Betracht kommen theoretisch diejenigen anatomischen Substrate, in denen die Esterase physiologischerweise vorkommt: 1. die intramuralen Ganglien (Automatiezentren!), 2. die Nervenfasern (Erregungsleitung!), 3. die „parasympathischen Receptoren[1]", 4. die Muskelfaser selbst.

[1] Diese „parasympathischen Receptoren" sind anatomisch nicht nachgewiesen, doch ist nach pharmakologischen Erfahrungen zumindest funktionell mit solchen zu rechnen im Gegensatz zur unspezifischen Muskelerregung durch Barium oder Histamin, die durch Atropin nicht spezifisch gehemmt wird. Im folgenden werden wir unter diesem Vorbehalt den Ausdruck „Receptor" beibehalten.

In antagonistischen Versuchen zeigte sich, daß die durch E 600, E 605 oder E 1059 ausgelösten Darmerregungen durch ganglionär wirksame Konzentrationen von Nicotin ($2 \cdot 10^{-6}$ bis $2 \cdot 10^{-5}$) oder von Hexamethonium ($2—8 \cdot 10^{-4}$) praktisch nicht beeinflußt werden. Auch lassen sich lähmende Nicotinkonzentrationen mit den geprüften Alkylphosphaten durchbrechen. Als Hauptangriffspunkt für die geprüften Esteraseblocker, d. h. als Auslösungsort für die Darmerregung, kommen die intramuralen Ganglien also nicht in Betracht. Damit entfällt auch gleichzeitig ein Angriffspunkt an den der Erregungsleitung dienenden Nervenfasern. Die Tatsache, daß die Alkylphosphaterregungen durch Atropin aufzuheben sind, schließt ferner einen direkten muskulären Angriff aus. So kämen per exclusionem als Ort der für die Darmerregung verantwortlichen Esterasehemmung vor allem die parasympathischen Receptoren in Betracht. Mit dieser Deutung lassen sich alle durchgeführten Versuche in Einklang bringen.

5. Analyse der peristaltischen Darmerregung nach E 600. Über peristaltikartige Motilitätsveränderungen des isolierten Kaninchendarmes bei Versuchen mit cholinesterasehemmenden Substanzen (DFP, HETP, TEPP, Neostigmin und Physostigmin) haben erstmals Salerno u. Coon (1949) berichtet (vgl. auch Wirth 1949). Dieses Phänomen scheint jedoch keineswegs bei allen Esteraseblockern aufzutreten. In unseren Versuchen mit den Alkylphosphaten E 600, E 605 und E 1059 zeigte sich, daß lediglich E 600 regelmäßig zu derartigen peristaltikähnlichen Darmerregungen führte; mit E 1059 ließ sich diese Erscheinung nur in vereinzelten Fällen, mit E 605 niemals auslösen.

Die Grenzkonzentration für die peristaltikauslösende Wirkung von E 600 entspricht praktisch der Grenzkonzentration der allgemeinen Darmerregung ($1—2 \cdot 10^{-8}$, vgl. auch Tab. 1). Unter langsam zunehmendem Anstieg des Darmtonus kommt es innerhalb eines Zeitraumes von 10—20 min nach Zusatz des Giftes zu einem abrupten Wechsel der Motilität: Sie ist durch eine starke Kontraktion mit nachfolgender, tiefer Erschlaffung des Darmpräparates gekennzeichnet. Diese peristaltischen Erregungswellen kehren in regelmäßigen Abständen von $^1/_2$—6 min wieder (vgl. Abb. 4a u. b). Höhere Paraoxonkonzentrationen lassen den Automatiewechsel schneller erfolgen.

Die durch Paraoxon ausgelöste peristaltikartige Darmerregung ist durch Auswaschen mit Ringer-Lösung nicht zu beseitigen, durch Atropin jedoch reversibel aufzuheben (vgl. Abb. 4a). Es verdient betont zu werden, daß die „Peristalsis" nur an frischen Darmpräparaten, nie aber an Darmstreifen, die länger als 24 Std im Eisschrank gelagert hatten, auszulösen ist, auch wenn diese noch eine normale Motilität besitzen.

Es sei an dieser Stelle darauf hingewiesen, daß Feldberg u. Lin (1949) Darmtonusschwankungen auf Veränderungen in der ganglionären Aktivität zurückführen, während die rhythmischen Pendelbewegungen des Darmstreifens unabhängig von ganglionären Elementen sein sollen. Man könnte danach annehmen, daß die beschriebenen peristaltikartigen Erregungswellen nach Paraoxon Folge

einer ganglionären Angriffsweise sind. Auch die Tatsache, daß das Phänomen sich nur an frischen Präparaten manifestiert, würde verständlich, wenn man voraussetzen will, daß die ganglionären Elemente des Präparates am schnellsten geschädigt werden.

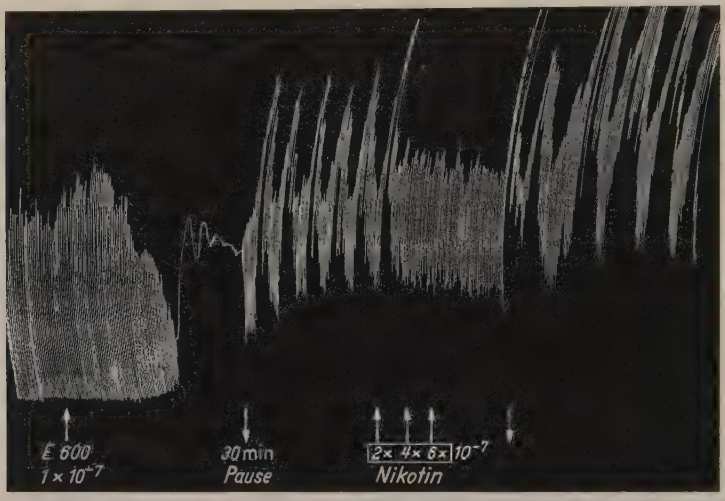


Abb. 4a. Die durch Paraoxon auslösbare peristaltikartige Darmmotilität ist nicht auswaschbar, aber durch Atropin reversibel aufzuheben

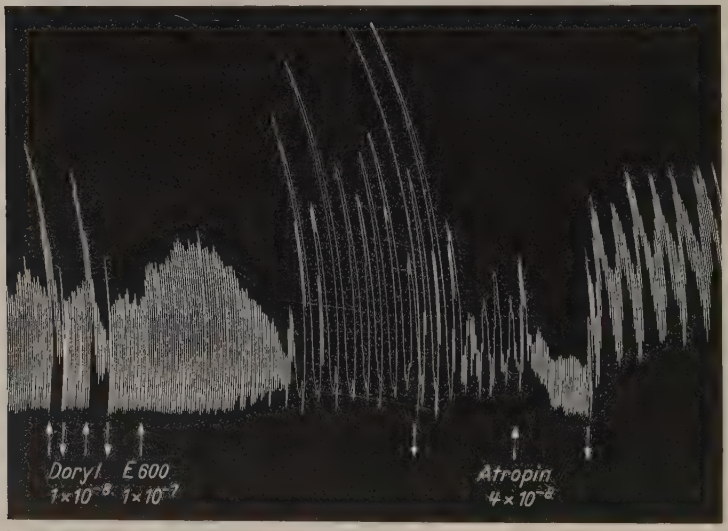


Abb. 4b. Die durch Paraoxon ausgelöste peristaltische Darmerregung wird durch Nicotin reversibel aufgehoben

Es liegt nahe, für den Nachweis des vermuteten ganglionären Ursprungs der durch E 600 ausgelösten Peristaltik Versuche mit ganglienblockierenden Verbindungen, wie z. B. Hexamethonium oder auch Nicotin,

heranzuziehen[1]. In der Tat vermag Hexamethonium ($2—8 \cdot 10^{-4}$) sowie Nicotin ($2 \cdot 10^{-7}$ bis $2 \cdot 10^{-5}$) diese peristaltische Erregung aufzuheben oder zu verhindern (Abb. 4b). Die normale Darmautomatie wird dagegen durch C_6 nicht verändert. Die Peristaltik auslösende Wirkung von Paraoxon scheint also auf einen ganglionären Angriff zurückzuführen zu sein. Der Wirkungsmechanismus ist jedoch auch hier in einer Hemmung der Cholinesteraseaktivität zu sehen, wie sich aus dem Verhalten in antagonistischen Versuchen mit den spezifischen Antidoten NHMJ und PAM ablesen läßt.

B. Analyse der lähmenden Wirkungskomponente der Alkylphosphate

Die durch die Alkylphosphate ausgelöste Darmlähmung ist im Gegensatz zur Darmerregung voll auswaschbar (vgl. Abb. 1 sowie S. 512). Man könnte annehmen, daß es sich hierbei vielleicht um die Auswirkungen eines bei der Esterasehemmung freiwerdenden Spaltproduktes der verwendeten Phosphorsäureester handelt: Enders u. Mitarb. (1952 a u. b) haben für die allgemein lähmende Wirkung von E 605 sowie für seine lähmende Wirkung am Herzen das p-Nitrophenol verantwortlich gemacht. Wir haben daher zunächst diese Hypothese experimentell überprüft.

1. Versuche zur Klärung des Wirkungsmechanismus. Es zeigte sich, daß p-Nitrophenol das isolierte Darmpräparat zwar zu lähmen vermag, jedoch machen die dazu notwendigen Konzentrationen ein Wirksamwerden dieses Spaltproduktes bei der Vergiftung mit E 600 und E 605 unwahrscheinlich. Das Molekulargewicht von E 600 beträgt 275,2, das von p-Nitrophenol 139,11. Berechnet man die Konzentration von p-Nitrophenol, welche von einer lähmenden Paraoxonkonzentration ($5 \cdot 10^{-5}$) maximal freigesetzt werden kann, nach der Gleichung:

$$\text{Konz. p-Nitrophenol} = \frac{\text{Molek. Gew. p-Nitrophenol} \times \text{lähmende Konz. von E 600,}}{\text{Molekulargewicht von E 600}}$$

so ergibt sich eine Nitrophenolkonzentration von $2{,}56 \cdot 10^{-5}$. Diese Konzentration müßte also lähmend wirken, wenn das bei der Esterasehemmung freigesetzte p-Nitrophenol für die darmlähmende Wirkung verantwortlich ist. Tatsächlich ist aber eine solche p-Nitrophenolkonzentration am isolierten Darmstück wirkungslos, wenn nicht sogar erregend wirksam. Erst Konzentrationen ab $2 \cdot 10^{-4}$ lähmen die Darmmotilität.

In Versuchen am Ganztier hat auch Enders (1952) versucht, mit p-Nitrophenol die lähmende Wirkung von Alkylphosphaten nachzuahmen. Als Erklärung für das Mißlingen nimmt Enders an, daß die Hydrolyse des Phosphorsäureesters ein *intracellulärer* Prozeß sei und von außen zugesetztes p-Nitrophenol das Zellinnere nicht in gleichen Konzentrationen erreichen würde. Dieser Hypothese widerspricht jedoch die an Darmpräparaten nachweisbare leichte Auswaschbarkeit der Lähmungen.

[1] Salerno u. Coon (1949) haben die durch DFP, HETP, TEPP, Neostigmin und Physostigmin ausgelöste „Peristalsis" mit Nicotin, ferner mit Thiamin und Procain aufheben können. Eine Erklärung für den Mechanismus der Peristaltik auslösenden Wirkungen cholinesterasehemmender Substanzen haben diese Autoren nicht gegeben.

Als weiterer Gesichtspunkt verdient erwähnt zu werden, daß die von uns geprüften Alkylphosphate gleichsinnig lähmend wirken (vgl. Tab. 1), E 1059 jedoch kein Phenolester, sondern ein Ester des Thioglykols ist und somit das von Enders diskutierte p-Nitrophenol nicht enthält.

Nachdem für die durch Alkylphosphate ausgelöste Darmlähmung ein etwaiges Spaltprodukt nicht verantwortlich gemacht werden kann, bleibt zu prüfen, ob sie, wie die Darmerregung, als Folge einer Esterasehemmung oder als Direktwirkung der Alkylphosphate aufgefaßt werden muß. Es sei hier an die unter A 3 mitgeteilten Befunde erinnert, daß die Alkylphosphate auch nach Vorbehandlung mit Eserin-Atropin eine Darmlähmung auszulösen vermochten (vgl. Abb. 2, s. auch S. 512). Danach muß die Darmlähmung also ohne Einschaltung des Acetylcholin-Acetylcholinesterasesystems zustande kommen, d. h. daß die Darmlähmung wohl als Folge einer Direktwirkung der Alkylphosphate anzusehen ist.

2. Versuche zur Klärung des Angriffspunktes. Bariumsalze gelten als den glatten Muskel direkt erregende Gifte. Pharmaka, die eine durch Bariumsalze ausgelöste Erregung zu hemmen vermögen, sind daher als muskulärlähmende Stoffe zu betrachten (Busse, Wolf u. Lendle 1953). Da darmlähmende Konzentrationen von Alkylphosphaten auch die Bariumerregung ($4 \cdot 10^{-5}$) schlagartig aufheben, erscheint ein direkt muskulärer Angriff der Alkylphosphate in diesen Konzentrationen gesichert. Wenn man berücksichtigt, daß dieser Angriff esteraseunabhängig ist (vgl. B 1), so nimmt es nicht wunder, daß sich die durch Alkylphosphate ausgelösten Darmlähmungen auch nicht durch die spezifischen Antagonisten NHMJ oder PAM beeinflussen lassen.

Diskussion

Im experimentellen Teil dieser Arbeit sind die erregenden und lähmenden Wirkungen einiger Alkylphosphate am isolierten Kaninchendarm analysiert worden. Dabei wurden schon die den Gang der Untersuchung bestimmenden Gedanken sowie die Bedeutung der Ergebnisse dargelegt. Die Diskussion kann sich daher auf die Besprechung einiger überraschender Befunde beschränken, die über die unmittelbare Fragestellung hinausgehen.

Von mehreren Untersuchern (Diggle u. Gage 1951a u. b, Myers, Mendel u. a. 1952, Kubistova 1956) ist nachgewiesen worden, daß sich Parathion (E 605) in vitro und in vivo sehr schnell in sein schwefelfreies Analogon, d.h. in Paraoxon (E 600) umwandelt[1] (sogenannte Konversion).

[1] Daneben geht Parathion vielleicht auch in eine isomere S-Äthylverbindung über (vgl. Metcalf u. March 1953). Es wäre möglich, daß diesem S-Äthyl-Isomeren dann biologische Wirkungen zukommen. Wirth und Schrader (persönl. Mitteilung) bezeichnen eine Umwandlung der Thionoform von Parathion in die entsprechende Thiolform allerdings als unter physiologischen Bedingungen nicht möglich.

Man nimmt an, daß die biologische Wirkung von Parathion in Wirklichkeit auf die Auswirkungen dieses Umwandlungsproduktes zurückzuführen ist. Demgemäß würde man bei einer vergleichenden Prüfung von Paraoxon und Parathion theoretisch nur mit quantitativen Unterschieden der Wirkungen rechnen. Tatsächlich lassen sich aus unseren Befunden aber erhebliche *qualitative* Unterschiede ablesen. Besonders erwähnt seien:

1. Die Tatsache, daß die darmerregenden (und auf einer Ch.E.-Hemmung beruhenden) Wirkungen von Parathion wider Erwarten und im Gegensatz zu Paraoxon auswaschbar sind, sowie 2. die Tatsache, daß Parathion im Gegensatz zu Paraoxon (und vielen anderen Esteraseblockern) keine peristaltikerregenden Wirkungen besitzt.

Diese qualitativ abweichenden Wirkungen von Parathion widersprechen der Konversionstheorie, der also, entgegen der üblichen Auffassung, bei unserer Versuchsanordnung keine Bedeutung zukommt. Besonders interessant und allerdings auch unverständlich erscheint uns die Auswaschbarkeit aller E 605-Wirkungen am überlebenden Darmstreifen; ein Befund, der gegen die Irreversibilität der durch E 605 ausgelösten Esterasehemmung spricht.

Wenn man als gegeben nimmt, daß unter den von uns gewählten Versuchsbedingungen eine Konversion von Parathion in Paraoxon nicht stattfindet, so läßt sich immerhin der als bedeutsam erwähnte zweite Befund (daß E 605 keine peristaltikauslösenden Wirkungen besitzt) doch deuten.

Es wird allgemein angenommen, daß das Auftreten der Peristaltik abhängig von der durch die Esterasehemmung bedingten A.Ch.-Anhäufung ist: zwischen dem Ausmaß einer Aktivitätsverminderung der Cholinesterase und der Darmmotilität sollen enge Beziehungen bestehen (Admiraal, Myers u. van Houten 1955): Bei einer Hemmung der Esteraseaktivität um 20% soll eine isolierte Erregung der Längsmuskulatur, bei einer Minderung um 40% eine zusätzliche Erregung der Ringmuskulatur und bei einer Hemmung um 80% eine Peristaltik auftreten. Salerno u. Coon (1949) geben an, daß die peristaltikartige Darmerregung nach Alkylphosphaten an isolierten Darmstreifen zu dem Zeitpunkt auftritt, wenn die Acetylcholinesterase zu 50% durch diese Stoffe gehemmt ist. Die folgende Tabelle gibt eine Zusammenstellung der von verschiedenen Autoren gefundenen Werte für eine 50%ige Hemmung der Cholinesteraseaktivität durch verschiedene Eesteraseblocker wieder.

Wenn es also richtig ist, daß die peristaltikartigen Wirkungen cholinesterasehemmender Stoffe vom Ausmaß der vorliegenden Esteraseblockade abhängt, so läßt sich auch erklären, daß dieses Phänomen durch E 605 nicht ausgelöst werden kann. Eine nennenswerte Esteraseblockade wird mit E 605 ja offenbar erst in Konzentrationen erreicht (vgl. Tab. 2, Spalte 2), bei denen schon die lähmenden Eigenwirkungen in den Vordergrund treten bzw. die Erregungen zu überlagern vermögen

(vgl. Tab. 1). E 1059 stellt dabei vielleicht gerade einen Grenzfall dar (nur gelegentlich Auftreten einer peristaltikartigen Erregung), weil hier die Breite zwischen esterasehemmender Konzentration (vgl. Tab. 2) und darmlähmender Konzentration (vgl. Tab. 1) etwas größer ist. Die

Tabelle 2

	1	2	3
TEPP . . .	$4{,}0 \cdot 10^{-9}$ M		bei $1{,}0 \cdot 10^{-8}$
HETP . . .	$1{,}6 \cdot 10^{-8}$ M		bei $5{,}0 \cdot 10^{-8}$
DFP . . .	$6{,}3 \cdot 10^{-8}$ M		bei $10{,}0 \cdot 10^{-8}$
E 600 . . .		$0{,}8 \cdot 10^{-8}$	
E 1059 . . .		$1{,}5 \cdot 10^{-7}$	
E 605 . . .		$1{,}2 \cdot 10^{-6}$	
Neostigmin			bei $1{,}4 \cdot 10^{-8}$
Physostigmin			bei $1{,}4 \cdot 10^{-8}$

Zu Tabelle 2. 1. Werte von Mangun u. Du Bois (1947). Hemmung der Rattenhirnesterase durch Alkylphosphate in vitro. 2. Werte von Wirth (1953). Hemmung der Rattenhirnesterase. 3. Werte von Salerno u. Coon (1949). Hemmung der Esterase des Darmes. Die gefundenen Werte für eine 50%ige Hemmung der Esterase sind zugleich die *Grenzkonzentration der Peristaltik!*

von uns ermittelte Grenzkonzentration von E 600 $2 \cdot 10^{-8}$ für die Auslösung einer Peristaltik stimmt dagegen mit dem von Wirth angegebenen Wert für die Esterasehemmung durch E 600 (vgl. Tab. 2, Spalte 2) etwa überein.

Summary

The mode of action and point of attack of the alkylphosphates paraoxon (E 600), parathion (E 605) and systox (E 1059) on the isolated rabbit intestine were investigated.

1. The spezial effects and the minimal effective concentrations of the different drugs are nearly equal. These effects are:

a) An increase of pendular motility and tone: $2\text{—}4 \cdot 10^{-8}$. Further more, paraoxon is different from the other substances by the appearance of a "peristalsis" ($2 \cdot 10^{-8}$ to ca. $2 \cdot 10^{-6}$). After washing out the parathion with Ringer's solution the excitement of intestine disappears. Washing produces a further increase of excitement in intestines treated with paraoxon or systox.

b) Inhibition of intestine motility (decrease of tone and paralysis of pendular rhythm): $1\text{—}5 \cdot 10^{-5}$. The paralytic effects of all these substances are removed by flushing the bath.

2. The effects of excitation of the investigated alkylphosphates on the intestine are produced by inhibition of intestine cholinesterase (experiments with atropine, physostigmine and specific reactivators of esterase). Points of attack are the "parasympathic receptors". The

appearance of peristaltic type of intestine motility is interpreted as a result of inhibition of a critical quantity of intestine esterase with relation to the autonomic ganglia (experiments with ganglionic blocking agents, atropine and specific reactivators of esterase).

3. The paralytic effects of the alkylphosphates on intestine seem to be produced by direct action on the smooth muscle (experiments with physostigmine, $BaCl_2$ and specific reactivators of esterase. Paralysis is not caused by metabolic compounds derived from the alkylphosphate (i.e. p-nitro phenol).

Literatur

Admiraal, J., D. K. Myers and J. C. van Houten: Effect of inhibition of cholinesterase on the motility of the small intestine. Nature (Lond.) **176**, 468 (1955).

Bethe, K., W. D. Erdmann, L. Lendle u. G. Schmidt: Spezifische Antidotbehandlung bei protrahierter Vergiftung mit Alkylphosphaten (Paraoxon, Parathion, DFP) und Eserin an Meerschweinchen. Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **231**, 3 (1957).

Busse, W., J. Wolf u. L. Lendle: Zur Frage des nervösen oder muskulären Angriffspunktes von darmwirksamen Pharmaka. Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **218**, 177 (1953).

Diggle, W. M., and J. C. Gage: Cholinesterase inhibition in vitro by 0,0-Diethyl-0-p-nitrophenyl-thiophosphate (parathion, E 605). Biochemic. J. **49**, 491 (1951).

Enders, A.: Die Kreislaufwirkung des Parathions. Arch. internat. Pharmacodynamie **89**, 169 (1952a).

Enders, A., u. H. Ruf: Die Wirkungen des Parathions auf das Zentralnervensystem. Arch. internat. Pharmacodynamie **90**, 174 (1952 b).

Feldberg, W., and R. C. Y. Lin: The action of local anaesthetics and d-tubocurarine on the isolated intestine of the rabbit and guineapig. Brit. J. Pharmacol. **4**, 33 (1949).

Kewitz, H.: Die Wiederherstellung der Cholinesteraseaktivität bei der Alkylphosphat-Vergiftung durch ein spezifisches Antidot. Klin. Wschr. **1957**, 521.

Kewitz, H., and D. Nachmansohn: A spezific antidote against lethal alkylphosphate intoxication. IV. Effects in brain. Arch. of Biochem. a. Biophysics **66**, 271 (1957).

Kubistova, J.: Parathion metabolism in rat liver and kidney slices. Experientia (Basel) **12**, 233 (1956).

Mangun, G. H., and K. P. du Bois: zit. nach Salerno u. Coon (1949).

Metcalf, R. L., and R. B. March: Reversed phase paper chromatography of parathion and related phosphate esters. Science (Lancaster, Pa.) **117**, 527 (1953).

Myers, D. K., B. Mendel, H. R. Gersman and J. A. Keetelaar: Oxidation of thiophosphate insecticides in the rat. Nature (Lond.) **170**, 805 (1952).

Nachmansohn, D.: Die Rolle des Acetylcholins in den Elementarvorgängen der Nervenleitung. Erg. Physiol. **48**, 575 (1955).

Salerno, P. R., and J. M. Coon: A pharmacologic comparison of hexaethyltetraphosphate (HETP) and tetraethylpyrophosphate (TEPP) with physostigmine, neostigmine and DFP. J. Pharmacol. a. Exper. Ther. **95**, 240 (1949).

Wirth, W.: Zur Pharmakologie der Phosphorsäureester. Diäthyl-p-nitrophenylphosphat („Mintacol"). Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **207**, 547 (1949).

Wirth, W.: Zur Pharmakologie der Phosphorsäureester. Diäthylthiophosphorsäureester des Äthylthioglykols („Systox-Wirkstoff"). Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **217**, 144 (1953).

Doz. Dr. W. D. Erdmann, Pharmakol. Institut der Univ. Göttingen, Geiststr. 9

Arch. exper. Path. u. Pharmakol., Bd. 232, S. 522—534 (1958)

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Bonn
(Direktor: Prof. Dr. Dr. W. Schulemann)

Über krankheitsbedingte Veränderungen des Arbeitsstoffwechsels bei Ratten*

Von
H. Friebel, R. Mappes und A. v. Graevenitz

Mit 6 Textabbildungen

(Eingegangen am 17. August 1957)

Bei vorausgehenden Versuchen, unblutige Methoden zum Nachweis von pulmonaler und kardialer Insuffizienz für das Tierexperiment zu entwickeln, wurde der O_2-Verbrauch in der Erholungsphase nach körperlicher Arbeit als Indicator für die Leistungsfähigkeit der am Gasstoffwechsel beteiligten Organe verwendet (Friebel, v. Graevenitz u. Vreden). Im folgenden wird über eine weitere Methode zur Gasstoffwechselmessung *während* der Arbeit berichtet und untersucht, inwieweit sie sich zum Nachweis verschiedener Formen kardiopulmonaler Insuffizienz eignet.

Arbeitsgerät. Nach dem Prinzip unseres früheren Arbeitsgerätes haben wir einen wesentlich kleineren Laufkäfig entwickelt. Die Lauffläche beträgt 25×8 cm, der Achsenabstand der Walzen 29 cm, die Länge der mit dem Reizgenerator verbundenen Gitterstäbe $7^1/_2$ cm. Ein Plexiglasblock füllt den Totraum zwischen Walzen und Laufband aus. Hinter der Antriebsachse befindet sich ein Raum zum Auffangen des Kots ($2 \times 4 \times 8$ cm); durch eine unterhalb des Gitters angebrachte Gummilasche wird ein Einklemmen des Schwanzes vermieden. Der kuppelförmige Deckel aus Plexiglas (lichte Höhe 9 cm) wird mit Hilfe von Schnappverschlüssen an eine Gummidichtung gepreßt. Der Boden ist durch Rändelmuttern an die Verschalung geschraubt und kann bei Reinigung des Gerätes leicht entfernt werden. Sämtliche Fugen des Käfigs sind mit Gummidichtungen versehen. — Die Gaszu- und ableitung erfolgt an den Schmalseiten der Verschalung (lichte Weite 10 mm). — Der Antriebsmotor hat eine Nennleistung von $^1/_{25}$ PS; die Umlaufgeschwindigkeit des Bandes ist in den Grenzen von 15—45 m/min stufenlos regulierbar.

Gasstoffwechselmessung mit dem Diaferometer nach Noyons[1] (Abb. 1):

Die von einer Pumpe (14) angesaugte Zimmerluft (4 l/min) tritt abseits vom Platz des Experimentators in ein 1 m langes Schlauchstück ein (1) und erreicht dann den Laufkäfig (2) von 2,3 l Luftraum. Der in ihm herrschende Unterdruck ist unmeßbar klein, da beide Lochblenden, welche die Durchströmungsmenge im Hauptstrom dosieren, hinter den Käfig geschaltet sind; Vakuumdichtigkeit des Käfigs ist infolgedessen entbehrlich (der zwischen Käfig und Umgebung erfolgende Gasaustausch beträgt weniger als $1^1/_{00}$ der Durchströmungsmenge). Hinter dem Käfig

* Herrn Professor Dr. Dr. W. Schulemann zum 70. Geburtstag gewidmet.
[1] Hersteller: Fa. Kipp, Delft.

wird die Luft bei der Passage eines $CaCl_2$-Röhrchens (3) so weit getrocknet, daß eine Wasserdampfkondensation im nachfolgenden Leitungssystem, insbesondere an den Lochblenden, unterbleibt. Das weitlumige Röhrchen (100 cm^3) enthält auf einem Drahtrost etwa 5 g mittelkörniges, analysenreines $CaCl_2$. Der Druckabfall an der ersten Blende (4) dient als Maß für die Durchströmungsmenge in der Hauptgasleitung und damit im Käfig; zugehöriges Manometer (5). Vor der zweiten Blende (7) wird das Analysengas zum Diaferometer (9) abgezweigt (6), es kehrt hinter ihr gemeinsam mit dem Bezugsgas in den Hauptstrom zurück (8). Das Bezugsgas wird unmittelbar aus der Raumluft angesaugt (10). Seine Durchflußmenge ist mit Hilfe einer Glascapillare so bemessen, daß es mit gleicher Geschwindigkeit wie das Analysengas durch die Meßzellen strömt. Störend wirken sich bei dieser Anordnung kleine Schwankungen der Durchströmungsmenge im Käfig aus, die durch Veränderung der Tourenzahl der Rotationspumpe (Warmlaufen des Motors, Schwankungen der Netzfrequenz) bedingt sind. Um eine gleichbleibende Durchströmungsmenge im Käfig zu erzielen, wurde dem Hauptstrom durch ein Rotameter (12) Luft zugeführt. Die Gesamtluft aus Hauptstrom und Rotameter gelangt durch eine Verengung (13) zur Pumpe (14). Infolge der Konstanz des Druckabfalls über den Drehkörper des Rotameters wird in (11) der Druck und damit die Größe des Hauptstromes stabilisiert. Die Lichtzeiger der Galvanometer legen nach einer plötzlichen Veränderung ihrer Nullage etwa die Hälfte ihres Ausschlages im O_2-Meßsystem in 4,5 sec, im CO_2-Meßsystem in 7 sec zurück. Veränderungen der Zusammensetzung des Analysengases werden von der O_2-Seite nach 35 sec, von der CO_2-Seite nach 25 sec beginnend, nach etwa 80 sec vollständig angezeigt.

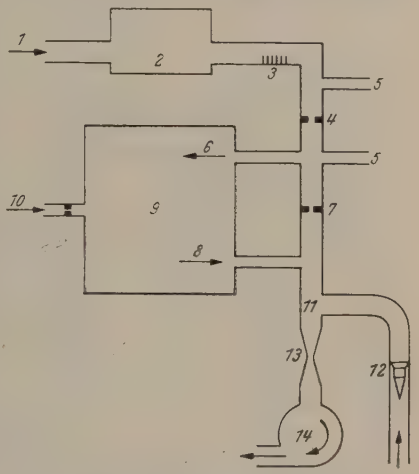


Abb. 1. Gasanalysen- und Arbeitsgerät, schematisch. Beschreibung im Text

Versuchstierhaltung. Die Ratten wurden einzeln oder paarweise in Töpfen gehalten und mit einem Gemisch von 4 T. Weizen, 3 T. Hafer und 3. T „Kraftfutter[1]" ernährt.

Versuchsverlauf. In drei Vorversuchen an aufeinanderfolgenden Tagen wurden 150—250 g schwere weibliche Ratten je 3, 4 und 5 min lang an das Laufen auf dem Band gewöhnt (Streckenleistung 25 m/min). Auf systematisches Training und Grundumsatzbedingungen wurde verzichtet (Begründung bei Friebel, v. Graevenitz u. Vreden). Etwa 10—15% der Tiere erlernten das Laufen nicht. — Im Hauptversuch wurde zunächst eine Entleerung der Darmgase provoziert (diese verändern die Wärmeleitfähigkeit der Käfigluft erheblich). Zu diesem Zweck ließen wir jedes Tier zunächst 1 min lang laufen und anschließend 15 min ruhen. Dann erst wurde die Gasstoffwechselmessung vorgenommen; zuerst zur Feststellung des Ruheumsatzes, dann zur Bestimmung der durch Arbeit bedingten Veränderungen, wobei die Tiere 6 min lang 20, 25 oder 30 m/min zurücklegen mußten. Während des

[1] „Muskator Vollkraftkorn/L"; Hersteller: Bergisches Kraftfutterwerk, Düsseldorf.

Hauptversuchs blieb das Gitter ungeladen; benutzte ein Tier jedoch das Gitter zum Ausruhen, so wurde es durch einmalige, kurze Stimulation zum Laufen ermuntert. Die Zeigerausschläge der Galvanometer wurden in den ersten 3 min der Arbeits- und nachfolgenden Erholungsperiode alle 30 sec, später alle 60 sec abgelesen. Die Ablesungen wurden jeweils zuerst an der CO_2-Skala, 10 sec später an der O_2-Skala vorgenommen (entsprechend der unterschiedlichen Latenz). Die Gesamtmeßperiode einschließlich der Bestimmung der Galvanometernullpunkte dauerte 16 min. Betrug

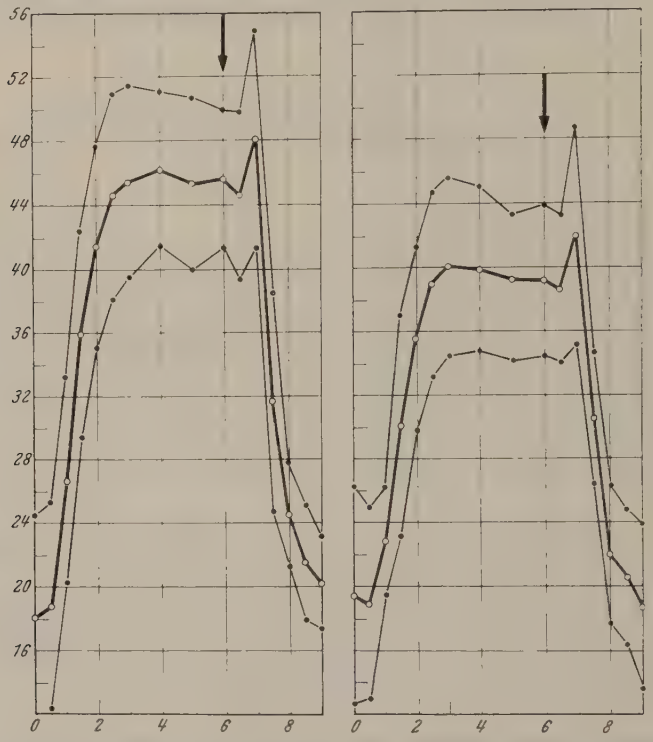


Abb. 2. O_2-Aufnahme gesunder Ratten im Arbeitsversuch. Senkrechte: O_2-Aufnahme in mm^3/cm^2 Körperoberfläche/min (760 mm Hg, 0° C). Waagerechte: Versuchszeit in Minuten. Laufgeschwindigkeit: 30 m/min (links) und 25 m/min (rechts). Arbeitsbeginn bei 0, Arbeitsende durch Pfeil gekennzeichnet. —○—○ Mittelwerte der O_2-Aufnahme von je 10 Ratten. —•—•—• Grenzen des Normalbereiches: $M \pm 2\,\sigma$ (σ = Abweichung der Einzelwerte)

der Nullpunktverlauf mehr als 5 mm/16 min, so wurde der Versuch nach einer angemessenen Pause wiederholt. Die Umrechnung der Galvanometerausschläge in Einheiten für O_2-Verbrauch und CO_2-Abgabe erfolgte in der früher angegebenen Weise. Graphische Darstellung der Ergebnisse in Form von Kurven (Senkrechte: O_2-Aufnahme in $mm^3/cm^2/min$; Waagerechte: Ablesezeit in min). Der O_2-Verbrauch entspricht während der gesamten Versuchsdauer der Fläche unterhalb der Kurve; während eines Ableseintervalls dem zugehörigen Flächenstreifen.

Kurz nach Arbeitsbeginn erfolgt zunächst (mit der gerätbedingten Latenz) ein steiler Kurvenanstieg. Die Kurve neigt sich dann, jedoch nicht früher als 2 min nach Arbeitsbeginn, zu einem mehr horizontalen

Verlauf, welcher einer relativ gleichbleibenden O_2-Aufnahme entspricht. Nach Arbeitsende zeigt sich nahezu in allen Fällen ein erneuter kurzdauernder Kurvenanstieg; etwa 2 min nach Erreichen dieses Gipfels ist die Kurve in den Bereich des Ruhewertes zurückgekehrt.

Beispiele für den O_2-Verbrauch *gesunder* Tiere: 1. Die Abb. 2 zeigt den O_2-Verbrauch von je 10 Ratten bei einer Laufgeschwindigkeit von 25 bzw. 30 m/min (Grenzen des Normalbereiches: $M \pm 2\,\sigma$ der Einzelwerte). Trotz weitgehender Überlappung der Normalbereiche sind die Mittelwerte statistisch different (t-Methode); ein Beweis, daß die Methode geringe Leistungsunterschiede anzeigen kann. 2. Aus der Abb. 3 geht das Verhalten eines von 8 untersuchten Einzeltieren bei 5 aufeinanderfolgenden Versuchen mit gleicher Belastung hervor. Hier sind die von Versuch zu Versuch auftretenden Abweichungen begrenzt, jedenfalls wesentlich geringer als diejenigen, welche zwischen verschiedenen Individuen bei gleicher Arbeit beobachtet wurden.

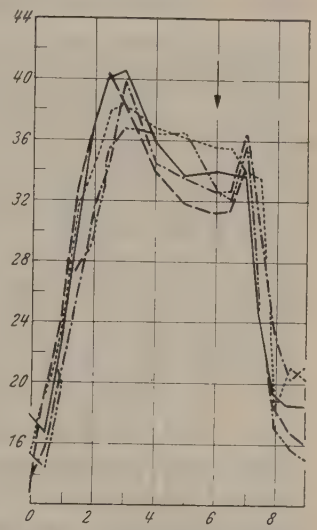


Abb. 3. O_2-Aufnahme eines gesunden Tieres bei wiederholten Arbeitsversuchen an 5 aufeinanderfolgenden Tagen; Laufgeschwindigkeit 20 m/min. Beschriftung der Senkrechten und Waagerechten wie Abb. 2

Diskussion. Das erste Beispiel zeigt, daß es möglich ist, den Gasstoffwechsel von Kleintieren während der Arbeit zu messen und einen Zusammenhang zwischen Arbeit und O_2-Aufnahme nachzuweisen. Die angewandte Methode ist empfindlich genug, um relativ kleine Leistungsdifferenzen zu erfassen (Abb. 2). Damit ist eine grundlegende Voraussetzung für die Durchführung physiologischer Untersuchungen gegeben.

Laufleistungen, bei denen 20 und 30 m/min zurückgelegt werden, verursachen Umsatzsteigerungen um das $1^1/_2$—3fache des Grundumsatzes. Sie sind, soweit ein Vergleich mit dem Verhalten des Menschen statthaft ist, kleineren bis mittleren Arbeitsleistungen (60—100 Watt) vergleichbar. Man kann bei einigen Tieren auch wesentlich größere Arbeitsleistungen erzielen, z. B. 40 m/min, die einem O_2-Verbrauch zur Folge haben, wie er beim Menschen unter schwerer körperlicher Arbeit (200 Watt, Rossier) beobachtet wird.

Die Reproduzierbarkeit der Ergebnisse wird dadurch begrenzt, daß das Laufen bei gleicher Geschwindigkeit nicht immer eine gleichgroße Leistung erfordert, denn das Laufen kann mit unterschiedlicher Ökonomie erfolgen; sogar bei anscheinend gleichartiger Lauftechnik können differente O_2-Mengen aufgenommen werden. Auch Angst und Aufregung beeinflussen offenbar den Gaswechsel (Friebel, v. Graevenitz u. Vreden). Die einmalige elektrische Stimulation verursacht entweder

keine oder nur eine geringe vorübergehende Erhöhung der O_2-Aufnahme, während die dauernde Stimulation sich bedeutend stärker auswirkt. Der Arbeitsbeginn kann ebenfalls eine Ursache der Erregung sein, denn häufig sind Sauerstoffverbrauch und RQ in der 3. und 4. min größer als in der 5. und 6. min. Die Gewöhnung des Tieres an den Versuch bzw. an die Wiederholung der Versuche führt aber nur in einigen Fällen zu einer Abnahme der Erregungs- und Leistungsbereitschaft (Abb. 3). Ruhige Behandlung der Tiere sowie die Verwendung eines geräumigen Laufkäfigs begünstigen die Reproduzierbarkeit der Ergebnisse.

Bei der Deutung der Kurven muß die Latenz des Gerätes beachtet werden. *a* Die Exspirationsluft des Tieres wird im Käfig der bereits vorhandenen Gasmischung beigemengt; *b* das in das Diaferometer einströmende Analysengas benötigt bis zum Erreichen der O_2-Meßstelle 35 sec und mischt sich *c* mit dem im Nebenschluß befindlichen Gas; *d* die Dämpfung der Galvanometer verursacht eine kleine zusätzliche Latenz. Im Modellversuch fanden wir, daß bei mittlerer Galvanometergeschwindigkeit die durch *c* und *d* bedingte Latenz etwa 8 sec beträgt. Insgesamt wird infolge der Latenz der O_2-Verbrauch im an- und absteigenden Schenkel verspätet und wohl auch etwas verzerrt angezeigt. Die Veränderungen sind aber nachweislich unabhängig von der Neigung der Kurve und treten daher bei allen Tieren in gleichem Maße in Erscheinung.

Die Darstellung der O_2-Aufnahme wurde in Abhängigkeit von der Ablesezeit vorgenommen. Berücksichtigt man bei der Auswertung die Latenz, so ist auffallend, daß die Ratten bereits $1^1/_2$—2 min nach Arbeitsbeginn ihren O_2-Verbrauch bis zum Maximum gesteigert haben; beim Menschen werden hierzu etwa 3—5 min benötigt (Landen). Der nachfolgende Kurvenverlauf sollte dem „steady state" entsprechen, doch treten hier zum Teil erhebliche Unregelmäßigkeiten auf, die wir auf unterschiedliche Arbeitsökonomie und wechselnde Erregung der Tiere zurückführen müssen (siehe oben). Der nach Arbeitsende auftretende Kurvengipfel wird beim Menschen nicht beobachtet. Seine Ursachen sind uns noch unbekannt. Je höher dieser Anstieg ist, desto schneller pflegt die nachfolgende Kurve zum „Ruhewert" abzufallen. Eine Sauerstoffschuld kann nicht quantitativ angegeben werden, weil die O_2-Aufnahme während der Erholungsphase durch die genannten Tierfaktoren verändert wird (Friebel, v. Graevenitz u. Vreden).

Diese Methode hat gegenüber der alleinigen Messung des Erholungsumsatzes den Vorteil der mehr ins einzelne gehenden Aussage (Feststellung des „steady state", Sauerstoffaufnahme bei dosierter oder maximaler Laufgeschwindigkeit) bei geringerem Zeitaufwand. Die langfristige Messung der O_2-Aufnahme nach Arbeit, die wir früher beschrieben haben, besitzt demgegenüber — infolge der geringeren Durchströmungsmenge (1 l/min) — den Vorteil größerer Genauigkeit. Im folgenden wird untersucht, inwieweit sich die Methode zum Nachweis verschiedener Formen kardiopulmonaler Insuffizienz eignet.

Die experimentellen Ergebnisse der Spiroergometrie beim Menschen lassen erwarten, daß eine Einschränkung der Lungen- oder Kreislauffunktion eine erniedrigte O_2-Aufnahme während der Arbeit und eine entsprechend vergrößerte O_2-Aufnahme in der Erholungsphase bedingt. Der Quotient Erholungs-O_2/Arbeits-O_2 wird daher um so größer, je stärker diese Veränderungen des Gaswechsels ausgeprägt sind.

Bei der Auswertung der im Arbeitsversuch gewonnenen O_2-Verbrauchskurven sind wir von dieser Grundlage ausgegangen und haben die in der 2. Minute nach Arbeitsende angezeigte O_2-Aufnahme zum entsprechenden Wert der 6. Arbeitsminute in Beziehung gesetzt:

$$\frac{O_2\text{-Aufnahme 7.—8. Versuchsminute}}{O_2\text{-Aufnahme 5.—6. Versuchsminute}} \cdot 100$$

Die in der ersten Minute der Erholungsphase abgelesenen O_2-Werte sind wegen der Latenz des Meßgerätes, die nach der 2. Minute dieser Phase erhaltenen Werte wegen der Auswirkung von Tierbewegungen nicht berücksichtigt worden.

Den Prozentwert, der nach diesem Verfahren erhalten wurde, haben wir als „relative O_2-Aufnahme" bezeichnet. Er ist, wie sich bei vergleichenden Untersuchungen an Kollektiven normaler Ratten nachweisen ließ, reproduzierbar (Tab. 1). *Von erhöhter „relativer O_2-Aufnahme" wird im weiteren gesprochen, wenn der beim Einzeltier erhaltene Prozentwert den Normalbereich ($M \pm 2\,\sigma$) eines Kontrollkollektivs überschreitet.* Die Auswertungsmethode hat vor anderen den Vorteil, daß sie weitgehend Differenzen der O_2-Aufnahme ausschaltet, die durch unterschiedliche Arbeitsökonomie verursacht sind; doch muß die absolute O_2-Aufnahme des Einzeltieres noch in den Normalbereich des zugehörigen Kontrollkollektivs fallen. Sobald die Werte für absolute O_2-Aufnahme den Normalbereich des Kontrollkollektivs unterschreiten, wächst die „relative O_2-Aufnahme" mit dem Ausmaß der Unterschreitung.

Tabelle 1. *Norm der „relativen O_2-Aufnahme" bei einigen Gruppen gesunder Ratten*

Belastung	Zahl der Messungen	Zahl der Tiere	Mittelwert	Normalbereich $M \pm 2\,\sigma$
20 m/min	8	8	82,4%	74,1—90,7%
20 m/min	38	16	81,6%	73,0—90,2%
25 m/min	10	10	79,5%	67,7—91,3%
30 m/min	9	9	75,5%	71 —80 %
30 m/min	10	10	76,4%	72,1—80,7%

1. Veränderungen des Arbeitsstoffwechsels bei experimenteller Silikose

Weiblichen Ratten im Alter von 6 Monaten wurde 8 Monate vor Ausführung der Messungen eine Quarzaufschwemmung nach der Methode von K. G. Schmidt u. H. Lüchtrath intratracheal injiziert. Tierhaltung und Arbeitsversuch entsprachen den schon angegebenen Bedingungen.

Der Gaswechsel der silikosekranken Tiere und des zugehörigen Kontrollkollektivs wurde mit stark gedämpften Galvanometern gemessen, wie wir sie zu Beginn der Untersuchungen verwandten[1]. (Die hier angegebenen Werte sind daher nicht mit denen der Tab. 1 vergleichbar.)

[1] Mit dem Wechsel der Galvanometer paßten wir uns einer von der Fa. Kipp inzwischen vorgenommenen Weiterentwicklung des Diaferometers an.

Die Tiere zeigten deutliche, aber individuell verschieden stark ausgeprägte Krankheitssymptome bei herabgesetzter Leistungsfähigkeit. Viele von ihnen liefen 6 min lang nicht schneller als 25 m/min. Ihr Grundumsatz war normal.

Nach dem Laufen atmeten 6 von 14 vorbehandelten Tieren angestrengt und beschleunigt, 2 hatten lediglich Tachypnoe, die restlichen 6 verhielten sich bezüglich ihrer Atmung wie die Kontrolltiere. Die O_2-Verbrauchskurven aller Tiere zeigten einen „steady state" im Normalbereich des Kontrollkollektivs ($M \pm 2\ \sigma$). 5 der dyspnoischen Tiere hatten eine erhöhte „relative O_2-Aufnahme", die zwischen 9 und 25% über dem Mittelwert des Kontrollkollektivs lag (Norm: $M \pm 2\ \sigma$ der Einzelwerte $= 90{,}0 \pm 8{,}3\%$). Das 6. Tier mußte nach Erreichen des steady state mehrfach stimuliert werden und lieferte demzufolge eine atypische, nicht verwertbare O_2-Verbrauchskurve. Somit konnte bei 5 der 6 dyspnoischen Tiere die Insuffizienz im Gasstoffwechsel nachgewiesen werden. Tiere, bei denen lediglich Tachypnoe oder gar Normalatmung beobachtet wurde, ließen keine Änderung ihres „relativen O_2-Verbrauchs" erkennen. Demzufolge bestand zwischen dem Ergebnis der Gaswechselmessung und dem visuell erkennbaren Krankheitszustand bei silikosekranken Tieren Übereinstimmung.

Abb. 4. Lage des Quecksilbers in den mittleren und kleineren Ästen der A. pulmonalis von Tier Nr. 8. (Frontalschnitt einer fixierten Lunge in Paraffineinbettung). → mit Quecksilber verstopfte Arterien

2. Veränderungen des Arbeitsstoffwechsels bei experimenteller Lungenembolie

Zur Erzeugung der Embolie wurde nach dem allgemeinen Vorschlag von Schumann Quecksilber in die Schwanzvene injiziert. Wir fanden, daß eine multiple Lungenembolie von gewünschtem Ausmaß entsteht, wenn man 0,3 cm^3/kg Quecksilber einspritzt und anschließend die Tiere etwa 10 sec lang am Schwanz hängend hält, um den Abfluß des Metalls in die Vena cava caud. zu fördern. Bei 8 von 10 weiblichen Ratten

(180—220 g) wurde autoptisch die Hauptmenge des Quecksilbers in der Lunge (Abb. 4), bei zweien paravenös im Schwanz gefunden. Der Eintritt der Embolie war an der Änderung des Atemtyps, die etwa 15 min später einsetzte, zu erkennen. Diese Tiere starben in der Regel am 4. bis 6. Tag nach der Injektion. Gewichtsverlust, Blutdruck-, Temperatur- und Grundumsatzsenkung, Cyanose, Ruhedyspnoe und in einigen Fällen auch Konjunktivalblutungen gingen voraus.

Die Grundumsatzsenkung wurde in Parallelversuchen quantitativ bestimmt. Sie betrug zwischen 4 und 30% des Mittelwertes der Norm (Norm: $M \pm 2\,\sigma$ der Einzelwerte = 11,5 ± 1,8 mm³/cm²/min bei 41 Kontrollmessungen an 13 weiblichen Ratten von 180—220 g). — Der Arbeitsstoffwechsel wurde vor der Injektion und dann an jedem folgenden Tag gemessen. Die Laufgeschwindigkeit betrug 20 m/min, da die Mehrzahl der kranken Tiere einer stärkeren Belastung nicht gewachsen war. Zum rechnerischen Nachweis emboliebedingter Stoffwechselveränderungen haben wir lediglich den ersten Lauf nach der Injektion mit dem Leerversuch verglichen. Später wurde das Krankheitsbild zunehmend durch die Quecksilbervergiftung kompliziert.

Angesichts der Arbeitsdyspnoe und Erschöpfung der 8 schwer geschädigten Tiere erwarteten wir, daß ihre absolute O_2-Aufnahme während der Arbeit vermindert und in der Erholungsphase entsprechend vermehrt war. Wir fanden aber bei 6 von 10 Tieren eine Senkung der absoluten O_2-Aufnahme in *beiden* Phasen des Arbeitsversuchs unter den Normalbereich für den absoluten O_2-Verbrauch des Kontrollkollektivs (Abb. 5). Bei diesen Tieren ist demnach die Zuverlässigkeit der Zahlenwerte für „relative O_2-Aufnahme" eingeschränkt.

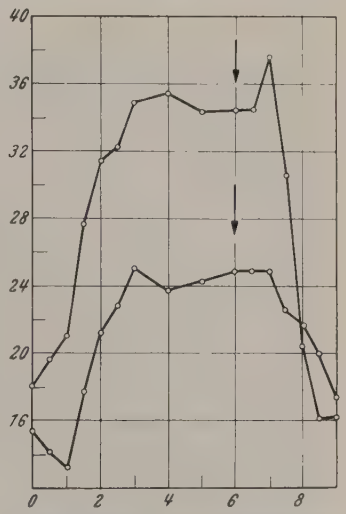


Abb. 5. Einfluß der Hg-Embolie auf die O_2-Aufnahme des Tieres Nr. 1. Senkrechte: O_2-Aufnahme in mm³/cm² Körperoberfläche/min. Waagerechte: Versuchszeit in Minuten. Arbeitsbeginn bei 0; Arbeitsende durch Pfeil gekennzeichnet. Laufgeschwindigkeit 20 m/min. Obere Kurve: vor der Embolie; untere Kurve: 15 Std nach der Embolie

Für dieses von den früher nachgewiesenen Beziehungen zwischen Laufleistung und O_2-Aufnahme abweichende Verhalten konnten wir drei Ursachen verantwortlich machen:

a) die Grundumsatzsenkung. Sie bedingt das niedrige Niveau der Fußpunkte und zum Teil auch das der Horizontalen;

b) ein schon in Ruhe bestehendes O_2-Defizit. Hierfür sprechen gleichzeitige Ruhedyspnoe und Cyanose. Derartige Tiere können bei Körperarbeit offenbar keine wesentliche zusätzliche O_2-Schuld mehr eingehen;

c) das Bestreben der kranken Tiere, ihre Muskulatur möglichst wenig zu betätigen. Die Auswirkung dieses Faktors auf den O_2-Verbrauch ist allerdings gering, wie die Untersuchung anderer Krankheitsbilder zeigte.

Inwieweit die Temperatur- und Grundumsatzsenkung sowie die O_2-Ersparnis im Arbeitsversuch in diesem Falle als Folge einer Hypoxie (Lit. bei Opitz sowie bei Goebel u. Mitarb.) aufzufassen sind, bleibt noch offen.

Bei einer Erniedrigung der absoluten O_2-Aufnahme erfährt die relative einen kleinen Zuwachs auch bei gesunden Tieren (vgl. Tab. 1). Da dieser Zuwachs jedoch bedeutend kleiner ist als der bei den kranken Tieren gefundene, ist eine Auswertung dennoch möglich. Unter Berücksichtigung dieser Tatsache zeigen die in der Tab. 2 zusammengestellten Resultate 7mal völlige und 3mal partielle Übereinstimmung, zwischen

Tabelle 2. *Überlebenszeit, funktionelle und morphologische Befunde nach i.v. Quecksilberinjektion*

Beschreibung im Text. $^{+}$ im Leerversuch mit 25 m/min belastet, Laufleistung sonst im Leer- und Hauptversuch 20 m/min, $^{++}$ getötet, $^{+++}$ nach histologischen Befunden geschätzt

Tier Nr.		1	2	3	4	5	6	7	8	9+	10+	Leerversuch Normalwerte ($M \pm 2\sigma$) von 8 Tieren
15—20 Std nach Hg-Injektion	rel. O_2	93,0	79,5	97,0	101,0	88,0	68,5	84,5	95,5	91,5	80,0	74,1—90,7%
	abs. O_2 (Arbeitsende)	24,7	30,5	30,5	26,0	23,0	34,0	26,7	27,5	27,2	35,8	29,7—40,3% $\frac{mm^3/cm^2}{min}$
	Arbeitsdyspnoe	++	(+)	+	+	++	∅	∅	+	+	∅	—
Tod, Tage nach Hg-Injektion		5	4	5	4	6	11	13	4	3	8^{++}	—
Luftleerer Anteil der Lunge in % $^{+++}$		50	40	70	>60	>70	25	25	50	60	50	—

Tabelle 3

Relative O_2-Aufnahme 1 Tag nach intrapleuraler Injektion von Paraffin. liqu.

Tier Nr.	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	Leerversuch; Normalbereich ($M \pm 2\sigma$) von 10 Tieren
rel. O_2 nach Injektion	94,0	82,0	93,0	98,0	90,0	80,0	86,0	88,0	87,0	99,0	80,2	72,5	72,1—80,7%
Arbeitsdyspnoe	+	(+)	+	+	+	+	+	+	(+)	+	∅	∅	
injiz. Menge cm^3	12	12	12	12	12	12	12	12	10	10	10	8	

den Ergebnissen der Gaswechselmessung, dem visuellen Eindruck (Dyspnoe, Erschöpfung) und dem bei der Sektion und histologisch festgestellten Schweregrad der Lungenschädigung (Abb. 6).

3. Veränderungen des Arbeitsstoffwechsels bei experimentellem Oleothorax

Bei 12 weiblichen Ratten (Gew. 195 –250 g) wurde in Äthernarkose durch beidseitige intrapleurale Injektion von Paraffinöl ein symmetrischer Oleothorax erzeugt. 8 von ihnen erhielten je 12 cm³ Paraffinöl. Bei jedem einzelnen Tier war die „relative O_2-Aufnahme" gegenüber dem Leerversuch (Leistung 30 m/min) erhöht. Dyspnoe war in jedem Fall vorhanden. Von den restlichen 4 Tieren, denen nur 10 bzw. 8 cm³ injiziert worden waren, hatten nur 2 Dyspnoe und erhöhte „relative O_2-Aufnahme". Bei drei der zehn dyspnoischen Tiere war die absolute O_2-Aufnahme geringfügig erniedrigt; ihr Grundumsatz verhielt sich normal. Bei den Untersuchungen über experimentellen Oleothorax bestand demnach bis auf das Tier Nr. 16 ebenfalls eine Parallelität zwischen Dyspnoe und erhöhter „relativer O_2-Aufnahme".

Abb. 6. Verteilung von lufthaltigem und infarziertem Gewebe in der Lunge von Tier Nr. 8 (Hämatoxylin-Eosin)

4. Veränderungen des Arbeitsstoffwechsels bei Cortexon-Hochdruck

11 Hypertonie-Ratten, rechtsseitig nephrektomiert, erhielten 1 mal wöchentlich 50 mg/kg Cortexon subcutan und 1,5% NaCl-Lösung als Trinkflüssigkeit; Blutdruckmeßverfahren nach Friebel u. Vreden. Ihr Arbeitsumsatz wurde erstmals vor der Cortexon-Applikation gemessen; die zweite Messung erfolgte vier Wochen später, die weiteren anschließend im Abstand von etwa 14 Tagen bis zum Tode (25 bzw. 30 m/min,

6 min lang). Bei 9 Tieren fand sich eine erhöhte „relative O_2-Aufnahme", 7 hatten außerdem zeitweilig eine Arbeitsdyspnoe. Eine Übereinstimmung zwischen Atemtyp und „relativer O_2-Aufnahme" wurde regelmäßig beobachtet, nachdem die Cortexonbehandlung 3 Monate und länger durchgeführt worden war.

Diskussion

Zum Nachweis kardiopulmonaler Insuffizienz wurden Veränderungen des Gaswechsels im Arbeitsversuch herangezogen. Zur Bewertung der Gaswechseländerungen haben wir den Begriff der „relativen O_2-Aufnahme" als Beziehung zwischen Erholungs- und Arbeits-O_2 unter Anlehnung an klinische Erfahrungen auf dem Gebiet der Spiroergometrie (Alleröder) aufgestellt. Er erwies sich als geeignet, beim Einzeltier primär pulmonale Funktionseinschränkungen, wie sie durch experimentelle Silikose und Oleothorax hervorgerufen werden, zu objektivieren und zu bewerten. In dieser Möglichkeit, das Individuum zu beurteilen, sehen wir einen wesentlichen Fortschritt gegenüber der früher angegebenen Methode, bei der die Erhöhung des O_2-Verbrauchs und des respiratorischen Quotienten der kranken Tiere in der Erholungsphase als Mittelwertdifferenz gesichert wurde (siehe Friebel, v. Graevenitz u. Vreden).

Auch der Funktionsausfall bei schwerer, multipler Lungenembolie konnte mit seiner Hilfe deutlich gemacht werden; doch gab die Größe der „relativen O_2-Aufnahme" bei diesem Krankeitsmodell erst im Zusammenhang mit der absoluten O_2-Aufnahme Auskunft über den Grad der Schädigung des kardiopulmonalen Funktionssystems. Der Gesamteindruck, den die Tiere im Arbeitsversuch machten, stützte diese Befunde (Dyspnoe, Abnahme der Leistungsfähigkeit).

Diese Untersuchungen wurden an Modellerkrankungen durchgeführt, die durch gezielte Organschädigungen hervorgerufen worden waren. Hier kam es in jedem Falle einer ausreichenden Funktionseinschränkung zu einer typischen Veränderung des Gaswechsels verbunden mit Dyspnoe.

Man möchte fragen, ob diese Ergebnisse zu der Folgerung berechtigen, daß gleichzeitiges Auftreten von erhöhter „relativer O_2-Aufnahme", Dyspnoe, Leistungsabfall, gegebenenfalls auch morphologischen Veränderungen an den Kreislauforganen eine Insuffizienz dieses Systems anzeigt, wenn seine Organe nicht gezielt geschädigt wurden, sondern pathologische Zustände bestehen, deren Auswirkungen auf das kardiopulmonale System ungewiß sind.

Ein Beispiel hierfür sind die Untersuchungen an Hypertonieratten. Bei ihnen fanden sich erhöhte „relative O_2-Aufnahmen", Dyspnoe, Leistungsabfall und bei der Sektion Herzhypertrophie sowie bei der

Mehrzahl auch histologisch nachweisbare Herzmuskelschädigungen in Form von frischen und älteren entzündlichen Herden, Nekrosen und Schwielen; bei einzelnen wurden auch Reizleitungsstörungen nachgewiesen. Es liegt nahe, die Erhöhung der „relativen O_2-Aufnahme" unter diesen Umständen als Folge einer kardialen Insuffizienz anzusehen. Da wir aber extrakardiale Faktoren als Ursache für die Gaswechseländerung bei derartigen Erkrankungen zur Zeit noch nicht ausschließen können, möchten wir eine Stellungnahme aufschieben. Dementsprechend können auch allgemeiner noch keine bindenden Rückschlüsse von den genannten Krankheitszeichen auf eine spezifische Insuffizienz gezogen werden.

Wir glauben aus der Gesamtheit der Ergebnisse folgern zu dürfen, daß das kardiopulmonale System des Kleintieres nach den gleichen Prinzipien beurteilt werden kann wie das des Menschen. Die Gaswechselmessung im Arbeitsversuch bietet die Möglichkeit, den Verlauf von artifiziellen Erkrankungen in diesem System über Monate zu verfolgen.

Summary

A method is described for estimating the gaseous metabolism in rats during work. The apparatus for performing work, the gas analyzer and the method of recording the results were modified in relation to the previous experimental method to determine the Recovery-metabolism. It is shown that a relationship exists between the speed on the running belt and O_2-intake, and that the O_2-intake of individual animal in consecutive experiments, under these conditions is relatively constant.

Measurement of the gaseous-metabolism in rats during work offers a possibility to control the progress of the artificially produced diseases in the cardio-pulmonary system for month together. For this purpose it was necessary to establish a relationship between O_2-intake during the recovery and the working phase, we called it "Relative O_2-intake". We found a higher "Relative O_2-intake" in rats with advanced silicosis as well as with severe oleothorax. Morover, they had a lower working capacity and dyspnea after work. Also most of the animals with experimental multiple embolism of the lungs produced by the intravenous injection of Mercury showed conformity between the "Relative O_2-intake" dyspnea and the severity of the disease. But in this case, it was necessary also to consider the "Absolute O_2-intake". In animals with chronic cortexon high pressure we likewise found a higher "Relative O_2-intake" and working Dyspnea.

Den Bau des Gerätes verdanken wir dem Feinmechanikermeister des Instituts, Herrn J. Kurschilgen. Fräulein G. Schulte danken wir für die wertvolle Mitarbeit, der Deutschen Forschungsgemeinschaft für die Förderung der Arbeiten.

Literatur

Alleröder, H.: Klin. Wschr. **1942**/I, 222.
Friebel, H., A. v. Graevenitz u. E. Vreden: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **230**, 51 (1957).
Friebel, H., u. E. Vreden: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **232**, 419 (1957).
Goebel, A., H. K. Fukas, W. Klante u. H. Imdahl: Z. exper. Med. **117**, 384 (1951).
Landen, H.: Die funktionelle Beurteilung des Lungen- und Herzkranken. Darmstadt: Th. Steinkopff 1955.
Opitz, E.: in F. H. Rein: Physiologie II (Naturforschung und Medizin in Deutschland 1939—1946, Fiat Berichte B 58). Wiesbaden: Dieterich 1948.
Schmidt, K. G., u. H. Lüchtrath: Beitr. Sil.-Forsch. **37**, 1 (1955).
Schumann, H.: Z. Kreislaufforsch. **38**, 606 (1949).

Priv.-Doz. Dr. med. H. Friebel, Pharmakolog. Institut d. Univ. Bonn, Reuterstr. 2 b

Arch. exper. Path. u. Pharmakol., Bd. 232, S. 535—543 (1958)

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Heidelberg
(Direktor: Prof. Dr. F. Eichholtz)

Experimentelle Insuffizienz am Herz-Lungen-Präparat des Meerschweinchens

Von
H. Hochrein, H. J. Wilke und M. Strapazakis

Mit 4 Textabbildungen

(Eingegangen am 22. März 1957)

Das Herz-Lungen-Präparat (HLP) der Ratte, nach Begovic u. Stern mit Hilfe der von Giaja ausgearbeiteten Unterkühlungsnarkose präpariert, ist gegenüber dem HLP des Hundes einfacher, weniger zeitraubend und daher für pharmakologische Routineuntersuchungen besser geeignet.

Da das Rattenherz auch im isolierten Zustand weitgehend Strophanthin-resistent ist, stellten wir uns die Aufgabe, das weniger resistente Meerschweinchenherz, das schon von v. Bubnoff für ähnliche Zwecke benutzt worden ist, als Testobjekt für Herzglykoside eingehender zu prüfen. Da im Gegensatz zum HLP des Hundes beim Meerschweinchenherz über Stunden kein spontaner Leistungsabfall eintritt, war es erforderlich, aus einer größeren Reihe von Möglichkeiten das beste Verfahren zur Erzeugung einer experimentellen Insuffizienz zu ermitteln. Es stellte sich heraus, daß Phenylbutazon (3,5-Dioxo-1,2-diphenyl-4 n-butylpyrazolidin)[1] am besten geeignet ist, eine experimentelle Insuffizienz zu erzeugen, die auf Strophanthin[2] anspricht.

Methodik

Wir verwendeten Meerschweinchen beiderlei Geschlechts im Gewicht von 150 bis 220 g. Schwerere Tiere waren bei der Narkose empfindlicher, außerdem trat nach beendeter Operation häufig ein akutes Herzversagen ein.

Zur Auffüllung des künstlichen Kreislaufes wurden 15 ml Rattenblut verwendet, die mit 5 ml physiolog. Kochsalz-Lösung verdünnt waren.

Aus den angegebenen Dosen der verwendeten Pharmaka kann die jeweilige Konzentration unter Berücksichtigung dieses Lösungs-Volumens von 20 ml berechnet werden[3].

[1] Phenylbutazon (Butazolidin „Geigy") wurde freundlicherweise von der Firma Dr. K. Thomae, Biberach a. d. Riß, zur Verfügung gestellt.

[2] Es wurde k-Strophanthin (Kombetin) verwendet, für dessen Überlassung wir der Firma C. F. Boehringer, Mannheim, danken.

[3] Strophanthin war bei der Verwendung von Ratten- und Meerschweinchenblut gleich wirksam.

Schweine- und Katzenblut waren nicht geeignet. Zur Gerinnungsverhütung diente 1 ml einer 5%igen Thrombocidlösung[1].

Das Minutenvolumen wurde mit dem Bubble-flow-meter nach Braun, Althoff und Taugner, die Herzfrequenz mit einer Mareyschen Kapsel auf der arteriellen Seite registriert. Für das Gelingen des Versuches ist die genaue Beobachtung des Tieres während der Unterkühlungs-Erstickungsnarkose erforderlich. Die Atmung darf nicht sistieren, die Körperstellreflexe dürfen nicht vollständig ausgeschaltet sein.

Bei der Operation ist vor allem auf die vorsichtige Behandlung der äußerst empfindlichen Lunge zu achten. Bei noch erhaltener Atmung darf erst nach Eröffnung des Zwerchfells künstlich beatmet werden. Auf diese Weise läßt sich ein vorzeitig auftretendes Lungenödem weitgehend vermeiden. Um die vorsichtige, langsame Eröffnung des künstlichen großen Kreislaufes durch die Zuflußkanüle zu kontrollieren, bauten wir vor diese eine Tropfkugel ein. Erst wenn das Herz frequente und kräftige Kontraktionen ausübt, kann der Zufluß vollkommen freigegeben werden. Der Venendruck sollte frühzeitig registriert und niedrig gehalten werden. War die optimale Leistungsfähigkeit nach einigen Minuten erreicht, was in Kontrollperioden registriert wurde, so konnten die Versuche mit dem entsprechenden Herzgift beginnen.

Das Vorratsgefäß befand sich auf der Grundstufe 20 cm über dem Herzen, bei den Belastungsstufen wurde es jeweils um weitere 5 cm erhöht.

Versuchsergebnisse

Die am HLP des Hundes häufig verwendete *Somnifenvergiftung* erwies sich am Meerschweinchenherzen als ungünstig, da die zur Beeinträchtigung der Herzleistung erforderliche Somnifenmenge zwischen 3 und 23 mg schwankte (52 Versuche). Neben dieser Unsicherheit in der Dosierung führte Somnifen häufig zu Lungenödem und plötzlichem Herzversagen, das meist nicht oder nur sehr kurz auf Strophanthin ansprach.

Dinitrophenol (1,5—3,4 mg $= 4{,}1 \cdot 10^{-4} - 9{,}3 \cdot 10^{-4}$ mol; 25 Versuche) unterschied sich von Somnifen nur dadurch, daß der erzielte Effekt nicht auswaschbar war und Strophanthingaben die Insuffizienz sogar noch verstärkten (Abb. 1, vgl. auch Wollenberger u. Karsh; Ellis).

Auch *Histamin* erwies sich als ungeeignet (8 Versuche): Nach Injektion von 55 γ traten Arrhythmien auf, 100 γ führten zu einer spontan reversiblen Insuffizienz und 200 γ zu akutem Herzversagen, das Strophanthin-resistent war (vgl. auch Anrep; Rühl).

Aconitin (45—70 γ/20 ml Blut; 10 Versuche) führte zu einem akuten, durch Strophanthin schlecht zu behebenden Herzversagen mit Arrhythmien, Bradykardie und gelegentlichen Spontanremissionen.

Calcium-Mangel wurde mit Hilfe der Äthylendiamintetraessigsäure erzeugt (16 Versuche). 6—9 mg führten zu einer Insuffizienz, die nur in leichteren Fällen mit Strophanthin beeinflußbar war. Stärkere Insuffizienzen sprachen nur auf Calciumchlorid an.

[1] Für die freundliche Überlassung von Thrombocid danken wir der Fa. Dr. W. Benend, München-Solln.

Kaliumchlorid führte in einer Dosis von 13—18 mg, d. h. bei einer *Erhöhung des Plasma-Kaliums* um das $2\frac{1}{2}$fache, zu einer langsam fortschreitenden Insuffizienz (12 Versuche). Diese konnte durch Calciumchlorid oder Strophanthin aufgehoben werden (für Strophanthin siehe Abb. 2). Durch erneute Kaliumzufuhr wurde oft eine zweite Dekompensation herbeigeführt. Weitere Erhöhung des Ca-Spiegels im physiologischen Verhältnis von etwa 1 : 1,5 führte auch hier zu einem therapeutischen Effekt.

Am HLP des Hundes kann durch zeitweise *Erhöhung des arteriellen Widerstandes* eine länger dauernde Insuffizienz erzeugt werden. Das Meerschweinchenherz paßte sich bei stufenweiser Erhöhung des Widerstandes der erhöhten Druckleistung zunächst ohne wesentliche Veränderung des Minutenvolumens und des Venendruckes an. Bei 95 bis 100 mm Hg trat dann plötzlich ein Strophanthin-resistentes Herzversagen auf. Senkung des Widerstandes führte — auch bei Wiederholung des Versuches — zur vollständigen Erholung (5 Versuche).

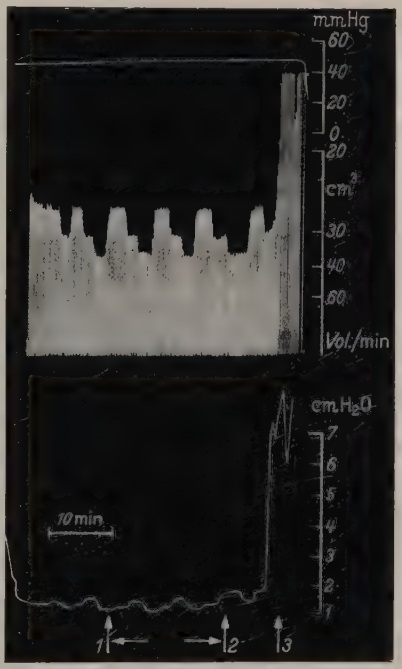


Abb. 1. Plötzliches Herzversagen nach Infusion von 2,4-Dinitrophenol am HLP des Meerschweinchens. Oben: Aortendruck. Mitte: Minutenvolumen. Unten: re. Vorhofdruck. Durch Erhöhung des venösen Vorratsgefäßes (Ausgangshöhe 20 cm über den Herzen) um jeweils 5 cm wurden Belastungsstufen aufgezeichnet. Von 1—2 Infusion von 1,7 mg 2,4-Dinitrophenol; 3 Injektion von 10 γ k-Strophanthin. Keine Wirkung

Senkung des arteriellen Widerstandes (4 Versuche) führte erst bei etwa 15 mm Hg zu einem akuten Herzversagen mit Verminderung des Minutenvolumens und steilem Anstieg des Venendruckes. Diese Insuffizienz war bei Erhöhung des Widerstandes reversibel mit der Ausnahme, daß bei den Belastungsstufen eine etwas größere Zunahme des Venendruckes auftrat (Abb. 3).

Unterbrechung der Blutzufuhr diente zur Erzeugung einer Anoxie (8 Versuche). Der venöse Zufluß wurde dabei für steigende Intervalle von $\frac{1}{4}$—$3\frac{1}{2}$ min abgeklemmt. Dazwischen lagen Pausen von je 5 min zur Aufzeichnung der Belastungsstufen. Erst eine Unterbrechung des Blutzuflusses für $2\frac{1}{2}$—$3\frac{1}{2}$ min führte zur Insuffizienz. Strophanthin war dabei unwirksam.

Bei der gelegentlichen Prüfung von Antirheumatica wurde auch das *Phenylbutazon*[1] untersucht. Es ergab sich, daß Phenylbutazon das isolierte Meerschweinchenherz schädigt. Der Phenylbutazoneffekt entspricht offenbar allen Anforderungen, die man an eine experimentelle Insuffizienz zu stellen hat (Abb. 4).

In über 200 Versuchen kam es ohne Ausnahme zu einer gut steuerbaren, sehr langsam fortschreitenden Insuffizienz, die immer gut auf Strophanthin oder andere Herzglykoside ansprach. Dazu kam noch ein weiterer wichtiger Vorteil, daß nämlich unter der Phenylbutazongabe keinerlei Lungenkomplikationen auftraten: Vermeidung des Lungenödems, d. h. gute Arterialisierung des Blutes und somit das Ausbleiben hypoxischer Schäden erlaubten das Arbeiten unter optimalen Bedingungen. Im Anfang schwach belüftete und zu Ödem neigende Lungenteile wurden unter Phenylbutazon sogar wieder voll leistungsfähig. Für Versuche mit anderer Zielsetzung ist es von Bedeutung, daß Phenylbutazon in etwa ¼ der herzschädigenden Dosis zur Verhütung des Lungenödems verwendet werden kann.

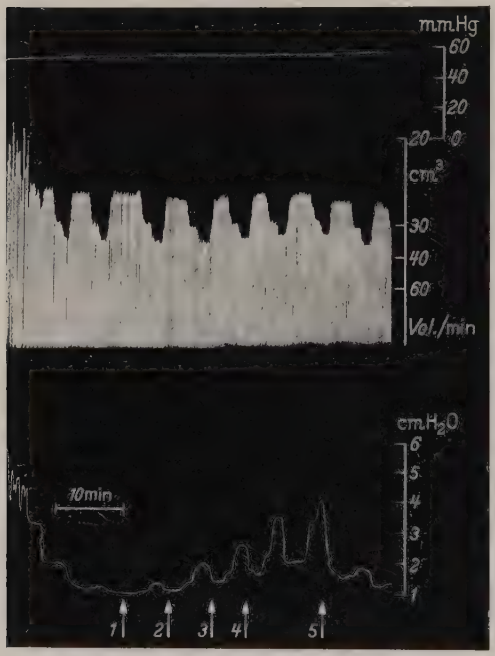


Abb. 2. Wirkung von k-Strophanthin am HLP des Meerschweinchens bei Kaliumschädigung. Von 1—4 Injektionen von insgesamt 18,7 mg Kaliumchlorid (10 mg, 5 mg, 2,5 mg, 1,2 mg). Bei den einzelnen Belastungsstufen ist eine zunehmende Druckerhöhung im re. Vorhof erkennbar. Bei 5 Injektion von 10 γ k-Strophanthin. Vollkommene Restitution (Abfall des Vorhofdruckes bei gleichzeitiger Zunahme des Minutenvolumens)

Die durchschnittliche, zu einer Herzinsuffizienz führende Phenylbutazondosis, innerhalb von etwa 10 min infundiert, betrug 13 mg/20 ml Blut. Es wurde im allgemeinen nur so lange infundiert, bis sich die ersten Anzeichen einer Verschlechterung des Venendruckes bei Belastung einstellten. Nach einiger Zeit erreicht dann die Herzleistung bei einer bestimmten Belastungsstufe die Suffizienzgrenze.

[1] Phenylbutazon wurde als 20%ige wäßrige Lösung verwendet. In Kontrollversuchen prüften wir auch die Handelslösung mit Xylocainzusatz. Die Ergebnisse waren dabei die gleichen.

Die Herzfrequenz nimmt dabei um etwa 10% des Ausgangswertes ab. Die Verschlechterung setzt so langsam ein, daß sie nur aus dem Vergleich der aufeinanderfolgenden Belastungsstufen zu erkennen ist. Strophanthin führte in diesem Stadium zu einer vollständigen Restitution der Herzleistung bei weiterer Abnahme der Herzfrequenz um 20% des Ausgangswertes[1].

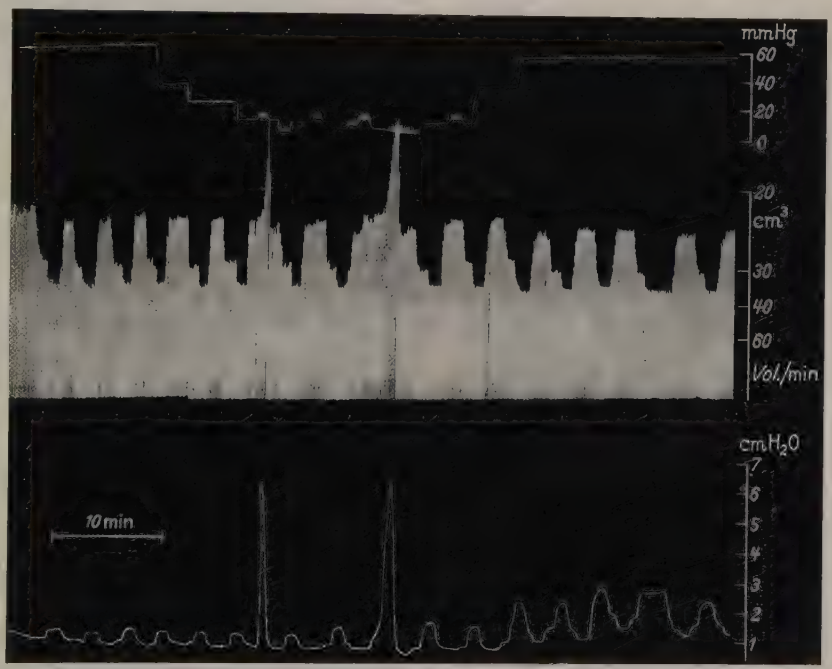


Abb. 3. Senkung des arteriellen Widerstandes führte zu einem vorübergehenden akuten Herzversagen, das durch Erhöhung des Widerstandes sofort wieder behoben werden konnte. Es wurde der arterielle Widerstand zweimal auf 10 mm Hg Gegendruck gesenkt, ohne daß das Herz nach Wiedererhöhung des Widerstandes in seiner Leistungsfähigkeit beeinträchtigt worden wäre

Man hat demnach mit der Phenylbutazonvergiftung eine Methode zur Hand, die bei einiger Übung immer zu einem gelungenen Versuch führt.

Besprechung der Ergebnisse

Somnifen, Histamin, Aconitin und Dinitrophenol, nach späteren Versuchen auch Fluoressigsäure, führen am isolierten Meerschweinchenherzen — auch bei vorsichtiger Dosierung — zu einem akuten

[1] Durch längerdauernde Infusion kann allerdings auch mit Phenylbutazon eine über die Suffizienzgrenze hinausgehende, Strophanthin-resistente Herzschädigung erzeugt werden.

Herzversagen. Beim Hund läßt sich mit diesen Stoffen, mit Ausnahme von Dinitrophenol und Fluoressigsäure, eine langsam fortschreitende Schädigung erzeugen. Die Ursache dieser verschiedenartigen Wirkung schädigender Pharmaka läßt sich nur vermuten. Das Meerschweinchenherz arbeitet im isolierten Zustand längere Zeit ohne Leistungsabfall, während beim HLP des Hundes eine Neigung zur Spontaninsuffizienz vorhanden ist. Die unterschiedliche Reaktion auf Herzgifte beruht also vielleicht darauf, daß diese Neigung zur Spontaninsuffizienz beim Hundeherzen lediglich verstärkt wird. Dafür sprechen auch die vom HLP des Hundes abweichenden Befunde bei Veränderung des arteriellen Widerstandes und bei Hypoxie.

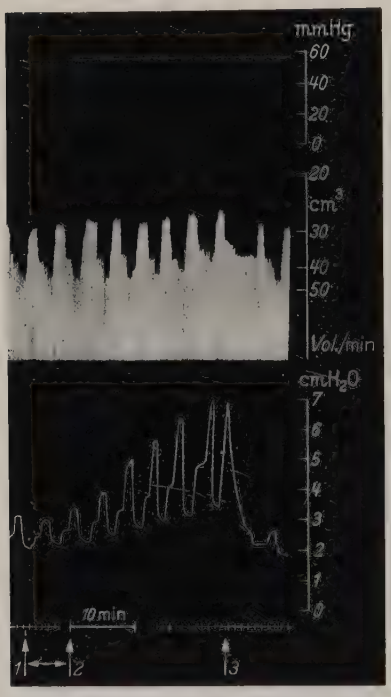


Abb. 4. Verlauf einer Phenylbutazon-Schädigung am HLP des Meerschweinchens. Von *1—2* Infusion von 13 mg Phenylbutazon; die Infusion wurde abgebrochen, nachdem bei Belastung der Druck im re. Vorhof einen stärkeren Anstieg zeigte als in der vorhergehenden Belastungsprobe. Es wurde ein entsprechendes Dekompensationsstadium abgewartet, das sich bei langsam fortschreitender Druckerhöhung im re. Vorhof allmählich herausbildete. *3* Injektion von 10 γ k-Strophanthin. Die vollkommene Restitution der Herzleistung ist am Abfall des Vorhofdruckes und der Minutenvolumen-Zunahme erkennbar

Auch die Strophanthinwirkung weicht in einzelnen Punkten beim HLP des Meerschweinchens von der am Hunde-HLP ab. Die durch Dinitrophenol und Fluoressigsäure erzeugte Insuffizienz läßt sich nicht durch Strophanthin beheben. Die Folgen der durch diese Stoffe erzeugten spezifischen Fermenthemmung (Loomis u. Lippmann; Fleckenstein) lassen sich offenbar durch Strophanthin in keinem Fall beseitigen (Wollenberger u. Karsh; Ellis). Die langsam einsetzende, bzw. schwächer ausgeprägte Insuffizienz des Hundeherzens nach Somnifen und Histamin spricht jedoch — im Gegensatz zu den Verhältnissen beim Meerschweinchen — beim Hund auf Strophanthin an. Die Aconitininsuffizienz ist wieder bei beiden Präparaten Strophanthin-resistent, obwohl sie beim Hundeherzen langsam entsteht. Aus diesen Beobachtungen geht keine eindeutige Beziehung zwischen der Geschwindigkeit der Insuffizienzentstehung und der Strophanthinwirkung hervor. Es ist daher zweifelhaft, ob die verschiedene Neigung zur Spontaninsuffizienz auch hier eine Rolle spielt.

Die Verschlechterung der durch Aconitin verursachten Insuffizienz nach Strophanthingaben scheint im Prinzip auch beim Hund vorzukommen: Nach Göing u. Busse führen therapeutische Strophanthindosen beim Herzen in situ auch nach abgeklungener Aconitinwirkung erneut zu Frequenzstörungen und Arrhythmien.

Die durch Äthylendiamintetraessigsäure (ÄDTE) erzeugte Ca-Mangel-Insuffizienz sprach erwartungsgemäß sehr gut auf Calcium an. Leitch u. Haley fanden zwar, daß ÄDTE auch als Ca- und Mg-Komplex eine negativ inotrope Wirkung entfaltet; in unseren Versuchen führte Calcium jedoch immer zur vollständigen Erholung des Herzens. Die Wirkung von Strophanthin bei der Ca-Mangelinsuffizienz war in leichteren Fällen deutlich, dagegen nicht so überzeugend, wie es aus den älteren Versuchen am Froschherzen bekannt ist (v. Konschegg; Loewi). Aus der verwendeten ÄDTE-Dosis läßt sich die zur Erzeugung einer Insuffizienz erforderliche Verminderung des ionisierten Calciums nicht mit Sicherheit errechnen, so daß ein zuverlässiger Vergleich mit den bekannten Versuchen am Frosch in dieser Hinsicht nicht möglich ist. Die günstige Wirkung von Calcium und Strophanthin bei der durch Erhöhung des Kaliumspiegels erzeugten Insuffizienz stimmt mit der am Froschherzen überein.

Widerstandsarbeit wird vom Herzen weit weniger ökonomisch geleistet als Zuflußarbeit (Evans; Gollwitzer-Meier). Durch Widerstandssteigerungen wird daher neben der routinemäßig durchgeführten Volumbelastung eine erhebliche Mehrbeanspruchung geschaffen. Sie beschleunigt am Hundeherzen das Auftreten einer Spontaninsuffizienz (Gollwitzer-Meier; Gollwitzer-Meier u. Krüger; E. A. Müller). Das leistungsfähigere Herz-Lungen-Präparat des Meerschweinchens wurde aber selbst durch diese doppelte Belastung nicht geschädigt. Bei den Versuchen mit Senkung des peripheren Widerstandes sollte die mit der Senkung des Aortendruckes einhergehende Verminderung der Koronardurchblutung eine hypoxische Schädigung des Herzens erzeugen. Dies gelang jedoch nicht: die Schädigung war nur vorübergehend und ließ sich durch geringfügige Erhöhung des peripheren Widerstandes wieder beseitigen. Die Abnahme der Förderleistung war offenbar nur mechanisch (Mangelhafter Klappenverschluß?) und nicht durch O_2-Mangel bedingt. Daß das Meerschweinchenherz außerdem gegen Hypoxie weitgehend resistent ist, geht aus den Versuchen mit Abklemmung des Zuflusses hervor. Mit Phenylbutazon gelang es schließlich, auch das leistungsfähige Meerschweinchenherz in der erforderlichen Weise gezielt zu schädigen. Phenylbutazon ist zu diesem Zweck experimentell noch nicht verwendet worden. Der gewünschte Effekt trat bei einem Phenylbutazonspiegel von etwa 65 mg-% auf. Bei der üblichen klinischen Gabe von täglich 750 mg Phenylbutazon i. m. schwankt der Blutspiegel

zwischen 12 und 20 mg-% (Gsell u. Müller). Da aber eine Übertragung der Beobachtungen am Meerschweinchen auf die Verhältnisse beim Menschen nicht ohne weiteres möglich ist, müssen weitere klinische Erfahrungen erst abgewartet werden; bis dahin betrachten wir die beschriebene Wirkung des Phenylbutazons allein als wichtiges technisches Hilfsmittel zur Erzeugung einer Strophanthin-empfindlichen, experimentellen Insuffizienz. Bei den klinischen Nebenwirkungen dürfte neben einer möglichen, jedoch beim Menschen noch unbewiesenen direkten Herzwirkung auch die Erhöhung des Plasmavolumens durch verminderte Wasser- und Kochsalzausscheidung beteiligt sein (Yü, Sirota u. Gutman).

Der Mechanismus der direkten Herzschädigung durch Phenylbutazon ist noch nicht im einzelnen bekannt. Neueste Ergebnisse von Bässler u. Lang besagen, daß Phenylbutazon in einer Konzentration von 10 mg-% die oxydative Decarboxylierung von Brenztraubensäure und α-Ketoglutarsäure hemmt. Da in unseren Versuchen Konzentrationen von 50—60 mg-% für die Erzeugung einer Phenylbutazon-Insuffizienz optimal waren, wäre es sehr gut möglich, daß die von Bässler u. Lang beschriebene Stoffwechselhemmung eine wesentliche Ursache der Herzschädigung ist. Das gleiche gilt für den Befund von Hiller, wonach schon 20 mg-% Phenylbutazon zu einer deutlichen Atmungshemmung und verminderten Reoxydation von hydriertem Diphosphopyridinnucleotid führen.

Zusammenfassung

Am Herz-Lungen-Präparat des Meerschweinchens erwies sich aus einer Reihe von schädigenden Eingriffen Phenylbutazon als zur Erzeugung einer Strophanthin-empfindlichen Insuffizienz am besten geeignet.

Für die Förderung und Durchsicht der vorliegenden Arbeit sind wir Herrn Prof. Dr. F. Eichholtz, sowie Herrn Priv. Doz. Dr. R. Taugner sehr zu Dank verpflichtet.

Literatur

Anrep, G. V.: Physiologic. Rev. **6**, 596 (1926).
Bässler, K. H., u. K. Lang: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **229**, 568 (1956).
Begovic, S., u. P. Stern: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **219**, 333 (1953).
Braun, W., H. Althoff u. R. Taugner: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **222**, 529 (1954).
Bubnoff, M. v., J. Krieg u. H. Amiri: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **227**, 111 (1955).
Ellis, S.: J. Pharmacol. a. Exper. Ther. **109**, 233 (1953).
Evans, C. L.: J. of Physiol. **52**, 6 (1918).
Fleckenstein, A.: Der Kalium-Natrium-Austausch. Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer 1955.
Giaja, I.: C. r. Acad. Sci. (Paris) **210**, 80 (1940).
Göing, H., u. W. Busse: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **223**, 19 (1954).
Gollwitzer-Meier, Kl., u. E. Krüger: Pflügers Arch. **238**, 279 (1937).

Gollwitzer-Meier, Kl.: Pflügers Arch. **245**, 385 (1941).
Gsell, O., u. W. Müller: Schweiz. med. Wschr. **1950**, 310.
Hiller, J.: Z. exper. Med. **126**, 244 (1955—56).
Konschegg, A. v.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **71**, 251 (1913)
Leitch, J. L., and Th. J. Haley: Arch. internat. Pharmacodynamie **95**, 234 u. 1045 (1953).
Loewi, O.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **82**, 131 (1918).
Loomis, F. W., and F. Lippmann: J. of Biol. Chem. **173**, 807 (1948).
Müller, E. A.: Pflügers Arch. **238**, 638 (1937).
Rühl, A.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **145**, 225 (1929).
Wollenberger, A., and L. M. Karsh: J. Pharmacol. a. Exper. Ther. **105**, 477 (1952).
Yü, T. F., J. H. Sirota and A. B. Gutman: J. Clin. Invest. **32**, 1121 (1953).

Dr. H. Hochrein, Physiolog. Institut der Albert-Ludwigs-Universität, Freiburg i. Br., Katharinenstr. 29

Arch. exper. Path. u. Pharmakol., Bd. 232, S. 544—561 (1958)

Aus dem Pharmakologischen Laboratorium der Knoll A.-G., Ludwigshafen a. Rh.
(Leiter: Prof. Dr. H. Haas)

Über die Beeinflussung des Ascorbinsäuregehaltes der Nebennierenrinde durch Reizstoffe

Von
H. Haas

Mit 3 Textabbildungen

(Eingegangen am 3. September 1957)

Die Reizstoffe verursachen bekanntlich eine direkte Alteration des Gewebes, die unmittelbar durch das einwirkende Agens bedingt ist. Bei dieser „Primärwirkung" unterscheiden sie sich, wie Heubner nachweisen konnte, in charakteristischer Weise durch ihre elektive Beeinflußung einzelner definierter Zellelemente bzw. durch ihre Angriffspunkte an mehreren unterscheidbaren Gewebsbestandteilen. Das besagt indes nicht, daß die gesamten lokal auftretenden Phänomene als unmittelbare Folge der primär einwirkenden Substanzen anzusehen sind — es sei denn, daß bestimmte entzündungserregende Agentien, wie die Bakterien, ausnahmsweise Faktoren enthalten, die direkt für die reaktive celluläre Wirkung mitverantwortlich sein können (Meier). In der Regel wird der Primärreiz endogene Mechanismen auslösen, so daß intermediär sekundäre biochemische Prozesse auftreten, die in das örtliche Geschehen mit eingehen, und die es bedingen, daß trotz der im Beginn verschiedenartigen Angriffsmechanismen und der unterschiedlichen Wirkungstypen weitgehend gleichartige Endzustände resultieren.

Der Effekt der Reizstoffe bleibt bei genügender Reizintensität nicht auf den lokalen Prozeß beschränkt. Er wird vielmehr in der Regel Sache des Gesamtorganismus, da der örtliche Vorgang als Teil des Ganzen bestimmte Regulationsmechanismen im Organismus wachruft. Dies wird offenbar durch eine Folge von begleitenden Allgemeinreaktionen, wie etwa der Verschiebung des Blutbildes mit einer Zunahme der Gesamtleukocytenzahl, Eosinopenie, relativer oder absoluter Lymphopenie, sowie Änderungen des Mineralhaushaltes, des Blutzuckerspiegels und anderer Faktoren. Diese Vorgänge wurden im Sinne der Hoffschen Konzeption über eine Umschaltung der vegetativen Regulationen gedeutet. Neuerdings wird diese gesamte unspezifische Symptomatik, die sich bei akut und chronisch einwirkenden Schädigungen, wie bei physischen und

psychischen Belastungen einzustellen pflegt, als ein Anpassungssyndrom und eine Folge der Aktivierung des Hypophysen-Nebennierenrinden-Systems (HNS) aufgefaßt. Zweifellos untersteht der Ablauf eines örtlichen Geschehens, das durch Reizstoffe ausgelöst wird, auch dem gleichen Regulationsmechanismus, vorausgesetzt, daß der Reiz in ausreichender Stärke zur Auswirkung gelangt.

Entsprechende Erfahrungen mit dem als spezifisch angesehenen Ascorbinsäure-Test liegen insbesondere für Histamin vor, bei dem eine Abnahme des Ascorbinsäure-Gehaltes von Sayers u. Sayers, Tepperman u. Mitarb., Blanchard u. Dearborn, Nasmyth, Halpern u. Benos sowie Fortier u. Guillemin belegt sind. Weiterhin ist bekannt, daß Formalin diese Wirkung hervorbringt. (Avon u. Mitarb., Domenjoz, Mörsdorf, Casentini, Ohi). Auch für Dextran ist der gleiche Nachweis erbracht (Domenjoz). Schließlich haben Bohnstedt u. Lanz beobachtet, daß Terpentinöl bei Ratten und Meerschweinchen die Nebennierenrinde stimuliert und eine progressive Transformation ihrer Struktur hervorruft, ein Effekt, der nach der Ansicht der Untersucher über die Hypophyse zustande kommt.

All diese Befunde erstrecken sich nahezu ausschließlich auf die Reaktion normaler, nicht dagegen hypophysektomierter Tiere. Nur für Histamin haben Blanchard u. Mitarb. beschrieben, daß die Beeinflussung des Ascorbinsäure-Gehaltes der Nebennieren nach Exstirpation der Hypophyse unterbleibt. Damit ist jedoch nicht zu entscheiden, ob der intakte Organismus auf die ganze Gruppe von Reizstoffen ausnahmslos in einer anderen Weise als das hypophysektomierte Tier reagiert und in welchem Umfange nach der Entfernung der Hypophyse das Wechselspiel zwischen örtlichem Geschehen und Gesamtorganismus erhalten bleibt.

Bei der Analyse der biochemischen Ursachen und Folgeerscheinungen von Reizstoffwirkungen wird man sich jedoch nicht mit der Feststellung zufrieden geben können, daß bei diesen Vorgängen die Selbständigkeit für die Teile im Sinne des Ganzen immer eine begrenzte bleibt und daß auch hier die Regel zutrifft: der Teil reagiert, das Ganze aber reguliert. Das ist nach biologischen Gesetzen nichts Besonderes; man wird infolgedessen in dem speziellen Fall der Reizstoffe kaum einen grundsätzlich anders gearteten Ablauf des Geschehens erwarten dürfen.

Weitaus schwieriger ist es, für einen anderen Fragenkomplex eine gültige Antwort zu finden, da dieser Bereich der experimentellen Bearbeitung weniger zugänglich ist. Trotz vieler Bemühungen besteht noch keine Klarheit, ob und in welchem Umfange der gesamte örtliche und allgemeine Reaktionsablauf als eine direkte Folge der primär einwirkenden Substanz interpretiert werden kann bzw. inwieweit er durch einen unspezifischen Anstoß im Gewebe von endogen im Herdgebiet entstehenden Mechanismen indirekt verursacht wird. Weiterhin ist es fraglich, ob sich alle Reizstoffe in ihren Folgeerscheinungen prinzipiell gleichartig verhalten oder ob es unter ihnen Stoffe mit differenzierbaren

Wirkungsweisen gibt, die, wie Meier u. Mitarb. für Crotonöl und Terpentinöl fanden, eine Sonderstellung unter den Reizstoffen einnehmen. Auch der Weg ist weitgehend unbekannt, auf dem der Signalisierungsmodus vor sich geht und durch den der primär lokalisierte Prozeß zur Sache des Organismus wird.

Es erschien daher sinnvoll, auch diesen Fragenkreis in die vorliegenden Untersuchungen mit einzubeziehen und ihn im Rahmen der vorgezeichneten methodischen Möglichkeiten, die durch die Charakterisierung des Einflusses von Reizstoffen auf das NHS gegeben sind, einer experimentellen Prüfung zuzuführen.

Methoden

Die Bestimmung des Ascorbinsäuregehaltes der Nebennieren erfolgte an Ratten nach der Methode von Roë u. Kuether. An den hypophysektomierten Ratten wurden alle Bestimmungen zum gleichen Zeitpunkt, und zwar 72 Std nach Beendigung des operativen Eingriffes, vorgenommen. Bei den Tieren, deren N. ischiadicus durchschnitten wurde, betrug der Zeitabstand zwischen der Operation und der Ascorbinsäurebestimmung 7 Tage, da sich in Vorversuchen erwiesen hatte, daß die Äthernarkose und die Durchtrennung der Nerven eine kurzfristige geringgradige Depletion bedingen, die nach Ablauf von wenigen Tagen wieder abklingt. Um möglichst sicher zu gehen, wurde der Ascorbinsäure-Test einheitlich auf den 7. Tag nach der Operation verlagert.

Die Reizstoffe wurden im allgemeinen in die Fußsohlen der Ratten injiziert. Die Flüssigkeitsmenge betrug stets 0,1 cm^3. Im einzelnen wurden benutzt: Crotonöl 2% gelöst in Erdnußöl; Terpentinöl 40% gelöst in Erdnußöl; Dextran 6%; Eiereiweiß unverdünnt; Formalin 0,75%; Histamin 1:1000; NaCl 0,9%.

Bei Crotonöl und Senföl wurden zusätzlich einige Versuche mit epicutaner Applikation der Reizstoffe ausgeführt. Die Ratten erhielten hierbei auf den zuvor rasierten Rücken jeweils 3 Tropfen der unverdünnten Reizstoffe.

Bei der Vorbehandlung der Tiere mit Antihistaminen, Sympathicolytica, Ganglienblockern usw. erfolgte die Zufuhr dieser Substanzen stets s.c. in Milligramm je Kilogramm, und zwar unmittelbar vor der Applikation der Reizstoffe in die Fußsohlen.

Im einzelnen wurden folgende Stoffe benutzt: Hydrocortone (Hydrocortison), Phenobarbital (5-Äthyl-5-phenyl-barbitursäure), Regitin [2-(N′-p-tolyl-N′-m-oxyphenyl)-imidazolin], Soventol (N-Phenyl-N-benzyl-4-amino-1-methylpiperidin), Acetopromazin [N-(3′-Dimethylamino)-propyl-3-acetophenothiazin] und Pendiomid (N,N,N′,N′-3-pentamethyl-N,N′,-diäthyl-3-azapentylen-1,5-diammonium-dibromid).

Für die Zählung der Leukocyten und Eosinophilen wurden die üblichen Techniken benutzt. Das Blut wurde durch Koupieren aus den Schwanzvenen entnommen. Die Veränderungen des Blutbildes wurden in Prozent des Ausgangswertes berechnet. Die Fußdicke wurde mit einer Schublehre, dicht unterhalb des Sprunggelenkes gemessen. Der unter dem Einfluß der Reizstoffe auftretende Schwellungszustand ist in den Abb. 1—3 regelmäßig in Prozent der Norm angegeben. Alle Angaben beziehen sich auf Mittelwerte an 6—12 Tieren.

Die Wirkung der Reizstoffe auf das Fremdkörpergranulom wurde nach den Angaben von Meier u. Mitarb. ebenfalls an Ratten untersucht. Die Reizstoffe wurden den Rohwatte-Presslingen in abfallenden Verdünnungsreihen zugesetzt.

Die Gewichtsbestimmung der Granulome erfolgte in allen Versuchsreihen gleichmäßig am 7. Tag nach der s.c. Implantation. Die Gewichtsdifferenz, die sich aus dem Vergleich mit dem kochsalzgetränkten Preßling der Gegenseite ergab, ist in der Tab. 4 als Prozentwert eingesetzt. Für jeden Versuch wurden 4 Tiere eingesetzt.

Versuchsergebnisse

A. Die Wirkung auf Leukocyten, Eosinophile, Schwellungszustand und Granulationswachstum

Alle Reizstoffe bewirken bei subplantarer Injektion an der Ratte einen örtlichen Schwellungszustand, der sich in der Regel rasch entwickelt und sein Maximum spätestens bei allen ausgewählten Stoffen im Laufe von 4 Std überschritten hat.

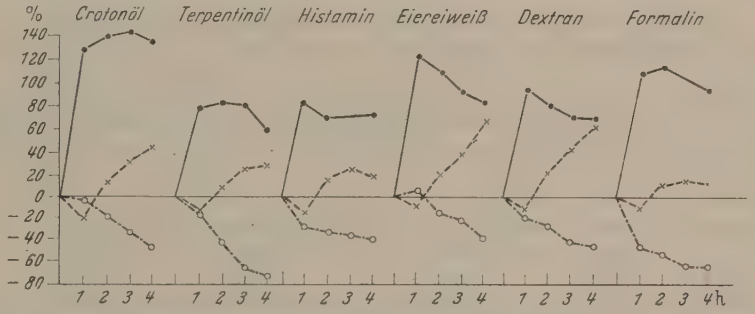


Abb. 1. Normale Ratten: subplantare Applikation; • ——— • Schwellung Fuß; × — — — × Leukocyten; o — · — o Eosinophile

Die Veränderungen des weißen Blutbildes bestehen innerhalb der ersten Stunde der Reizstoffeinwirkung in einer geringgradigen Abnahme, der Leukocyten, auf die eine Granulocytose folgt, die bei Histamin, Formalin und Terpentin unter den gewählten Versuchsbedingungen, ähnlich wie die Granulocytopenie, nicht sehr ausgesprochen ist. Gleichzeitig tritt ein Eosinophilensturz ein, der bei allen Reizstoffen etwa gleichmäßig ausfällt und nur in seinen zeitlichen Verlaufsformen geringgradige Unterschiede erkennen läßt. Bekanntlich kann der Eosinophilentest in seinen Resultaten aus technischen und statistischen Gründen nicht ohne Skepsis beurteilt werden. Im Zusammenhang mit anderen Veränderungen des Blutbildes wird man jedoch diesen Faktor nicht ganz übersehen können, zumal die Gleichförmigkeit des Phänomens bei allen Reizstoffen als ein Positivum zu vermerken ist. Im übrigen bedeutet der gleichartige Ausfall aller Testreaktionen offensichtlich, daß alle diese Erscheinungen weitgehend unspezifischer Natur und daher ungeeignet für eine Charakterisierung der einzelnen Reizstoffe sind. Sie sind zudem identisch mit den von Hoff bei der vegetativen Gesamtumschaltung beobachteten Blutbildveränderungen und stimmen mit der von Selye

im Rahmen des Adaptationsyndroms beschriebenen cellulären Umwandlung der Blutzusammensetzung überein (Abb. 1).

Nach der Hypophysektomie verschwindet bei allen Reizstoffen die Leukocytose. Ebenso entfällt in der Regel die Eosinophilenreaktion. Für Terpentinöl und Crotonöl findet sich auch unter diesen Umständen bei allen Tieren regelmäßig ein Abfall der Eosinophilen unter die Ausgangswerte, und zwar in statistisch zu sichernden Ausmaßen (Abb. 2).

Die akute lokale Reaktionsphase, gemessen am Schwellungszustand der Füße, läuft hingegen bei den normalen und hypophysektomierten Tieren mit Ausnahme des Terpentinöls praktisch gleichartig ab. Das örtliche Geschehen wird demnach im Gegensatz zu der Sequenz von begleitenden Allgemeinsyndromen durch die Hypophysektomie sicher

Tabelle 1. *Fremdkörpergranulom.* Gewichtsveränderung in Prozent

Konzentration	normale Ratten					hypophysektomierte Ratten				
	Croton-öl	Terpen-tinöl	Senföl	Hist-amin	Dex-tran	Croton-öl	Terpen-tinöl	Senföl	Hist-amin	Dex-tran
1 : 2,5		+ 88					+ 43			
1 : 5		+ 67								
1 : 10	+ 206	+ 46			+ 4	+ 146	+ 18			+ 3
1 : 100	+ 108	+ 19	+ 156			+ 94	— 4	+ 78		
1 : 1000	+ 68		+ 147	+ 9		+ 55		+ 57	+ 9	
1 : 10000	+ 25		+ 38			+ 11		+ 14		
1 : 1000000			+ 16							

nicht gehemmt. Der Zusammenhang zwischen der örtlichen und der allgemeinen Reizreaktion, der bei genügender Reizintensität unter normalen Bedingungen regelmäßig anzutreffen ist, wird also durch die Entfernung der Hypophyse weitgehend aufgehoben. In diesem Ergebnis darf man eine indirekte Bestätigung für die Auffassung von Hoff sehen, der der nervösen Steuerung bei der leucocytären Reizantwort eine maßgebliche Rolle zuweist. Es erscheint daher verständlich, daß nach einer Läsion der hypothalamischen Kerngebiete, die bei einer Hypophysektomie unvermeidbar ist, die Leukocytenbewegung entfällt.

Der unveränderte Ablauf der akut einsetzenden Schwellungsvorgänge am Ort der Reizstoffeinwirkung besagt indes nicht, daß sich der lokale Reizzustand nach Ausschaltung der Hypophyse in seinen weiteren Folgeerscheinungen, wie etwa in der Proliferationsphase der mesenchymalen Gewebsanteile, uneingeschränkt auswirken kann. Aus dieser Überlegung heraus wurden zusätzlich einige orientierende Versuche mit dem *Fremdkörpergranulomtest* ausgeführt, mit dem Meier u. Mitarb. bereits eine Reihe von Reizstoffen untersucht und mit dem sie aus der Gruppe der in den eigenen Versuchen diskutierten Reizstoffe für Crotonöl eine deutliche granulomfördernde Wirkung nachgewiesen haben.

Bei diesem Verfahren werden die zu prüfenden Substanzen in einen Watte-Preßling eingebracht und gelangen auf diese Weise über mehrere Tage zur Einwirkung. Die eigenen Erfahrungen beschränken sich auf einen fixen Zeitpunkt von 7 Tagen, nach deren Ablauf die Gewichtsbestimmung der Granulome erfolgte. Naturgemäß kann in einem solchen Test nur ein relativ komplexes Geschehen summarisch erfaßt werden, an dem neben der Reaktion des Bindegewebes Leukocyten, Fibrocyten und Gefäßprozesse beteiligt sind, das aber in seiner Gesamtheit eine relativ brauchbare Auskunft über die Reaktionsfähigkeit des Granulationsgewebes verspricht. Die Bestimmung der Gewichtsdifferenz der mit physiologischer Kochsalzlösung beschickten Implantationsgranulome und der mit Reizstoffen getränkten enthält somit in Verbindung mit der Hypophysektomie die Möglichkeit festzustellen, in welchem Umfange die einzelnen Reizstoffe die gesamten Funktionen

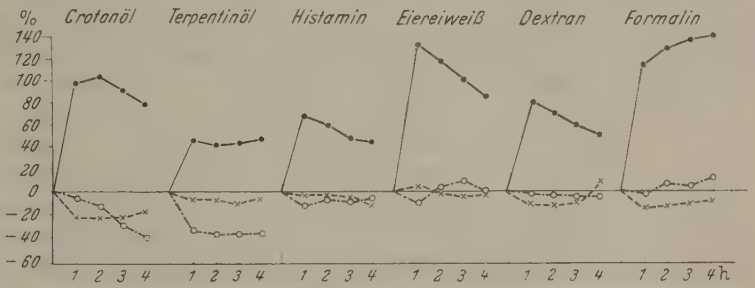


Abb. 2. Hypophysektomierte Ratten: subplantare Applikation; • — • Schwellung Fuß; × — — × Leukocyten; o — • — o Eosinophile

des Granulationsgewebes beeinflussen, inwieweit sie sich an normalen Tieren verschiedenartig verhalten und wie die Entfernung der Hypophyse in diese Prozesse eingreifen kann.

Für diese Bestimmungen wurden im einzelnen Crotonöl, Senföl, Terpentin, Dextran und Histamin ausgewählt und die gemessenen Abweichungen der Granulomgewichte von der Norm in Prozent berechnet. Die angeführten Zahlen stellen Mittelwerte aus den Ergebnissen an je 4 Granulomen dar.

Neben der bereits von Meier an normalen Ratten gefundenen fördernden Wirkung von Crotonöl auf das Granulomgewebe ließ sich ein gleichartiger Effekt für Senföl nachweisen. Daneben steigert Terpentinöl, das nach der Ansicht von Meier ebenfalls ein besonders geartetes reizendes Agens darstellt, in geringen Ausmaßen die Entwicklung der Granulome, während Dextran und Histamin in dieser Hinsicht keinen Einfluß haben. Dieses unterschiedliche Verhalten der einzelnen Reizstoffe am normalen Tier überrascht indes nicht, da schon aus den Arbeiten von Meier u. Mitarb. zu entnehmen ist, daß die Reizstoffe sich in diesem Test recht verschiedenartig auswirken. Diese Feststellung wird durch die eigenen Beobachtungen insofern erweitert, als sich zeigen ließ, daß nur die 3 Stoffe Senföl, Terpentinöl und Crotonöl, die am normalen Tier die Reaktion des Mesenchym begünstigen, nach der Hypophysektomie das gleiche bewirken. Die Sonderstellung dieser Stoffe wird somit am hypophysenlosen Tier

nicht nur durch das Verhalten der Eosinophilen, sondern auch durch die bestehenbleibende granulomfördernde Wirkung unterstrichen.

B. Die Wirkung auf den Ascorbinsäuregehalt der Nebenniere

Alle ausgewählten Reizstoffe verursachen an der normalen Ratte eine Abnahme des Ascorbinsäuregehaltes der Nebenniere. Bei Crotonöl setzt die Einwirkung auf die Nebennierenfunktion sehr rasch ein, so daß bereits $^1/_2$ Std nach der Injektion in die Fußsohle der Depletionseffekt einwandfrei nachweisbar ist. Beim Aufträufeln des Öles auf die Rückenhaut dauert es erwartungsgemäß etwas länger, bis das gleiche Resultat signifikant feststellbar ist. Nach 2stündiger Einwirkungsdauer sind auch bei dieser Applikationsform die Ascorbinsäurewerte eindeutig unter die Norm herabgedrückt. Ebenso wirkt Senföl bei epicutaner Anwendung. Schon $^1/_2$stündige Einwirkung genügt bei diesem Reizstoff, um den Ascorbinsäuregehalt erheblich zu mindern. Eiereiweiß und Dextran führen bei intraplantarer Zufuhr im Verlauf von 60 min zu eindeutigen Abnahmen im Ascorbinsäuregehalt der Nebenniere. Terpentinöl und Histamin wirken in gleicher Weise nach 2stündiger Verweildauer im Organismus und bei Formalin ist erst nach 3 Std ein sicherer Effekt nachweisbar. Ein in gleicher Weise durchgeführter Kontrolltest mit Kochsalzlösung läßt den Ascorbinsäuregehalt der Nebenniere unangetastet.

Nach der Hypophysektomie ist bei Eiereiweiß, Dextran, Formalin und Histamin die Wirkung auf die Nebennieren zu einem Zeitpunkt, an dem diese Reizstoffe bei normalen Tieren den Ascorbinsäuregehalt vermindern, nicht mehr nachweisbar, während Crotonöl und Senföl innerhalb des gleichen Zeitraumes, den Ascorbinsäuregehalt wie an normalen Tieren, einwandfrei senken. Auch das Ausmaß dieser Reaktion bleibt etwa das gleiche, wenn man berücksichtigt, daß die Ratten 72 Std nach der Hypophysektomie durchschnittlich über einen etwas höheren Gehalt an Ascorbinsäure in der Nebenniere als normale Tiere verfügen. Bei Terpentinöl setzt die Abnahme der Nebenniere-Ascorbinsäure erst 3 Std nach Zufuhr eindeutig ein. Eine abnehmende Tendenz ist indes schon nach 2 Std zu erkennen, während Eiereiweiß, Dextran, Formalin und Histamin zu diesem Zeitpunkt die Ascorbinsäurewerte unangetastet lassen, so daß auch bei einer statistischen Überprüfung nicht die geringste Abweichung von den Normalbereichen feststellbar ist.

Es bleibt somit als auffallendes Ergebnis dieser Versuchsreihe, daß lediglich die Reizstoffe, die die Granulomentwicklung noch am hypophysenlosen Tier fördern und eine Abnahme der Eosinophilen im Blut unter den gleichen Bedingungen veranlassen, nach der Entfernung des gleichen Organs, einen sicheren Depletionseffekt setzen, während alle anderen chemischen Reizstoffe in allen Testen diese Wirkungskompoponente

Tabelle 2. *Ascorbinsäuregehalt der Nebennierenrinde Milligramm/100 g Frischgewicht (Mittelwerte + Standortweichung). Normale Ratten*

Reizstoffe	Darreichungsform	nach 15′	P	nach 30′	P	nach 60′	P	nach 120′	P	nach 180′	P
Crotonöl . . .	i. plant.	342 ± 40 (4)	0,30	155 ± 10 (5)	0,001	170 ± 19 (4)	0,001	152 ± 14 (12)	0,001	63 ± 23 (3)	0,001
	epicut.					228 ± 17 (3)	0,05	96 ± 16 (4)	0,001		
Senföl	epicut.			195 ± 20 (4)	< 0,01			121 ± 24 (7)	0,001		
Terpentinöl .	i. plant.					242 ± 14 (7)	0,05	213 ± 14 (8)	0,001	118 ± 24 (5)	0,001
Histamin . .	i. plant.					235 ± 20 (3)	< 0,1	228 ± 12 (23)	0,001	127 ± 23 (5)	0,001
Eiereiweiß . .	i. plant.					155 ± 23 (5)	0,001	169 ± 20 (10)	0,001	195 ± 47 (5)	< 0,02
Dextran . . .	i. plant.					194 ± 16 (5)	0,001	165 ± 16 (10)	0,001	92 ± 14 (4)	0,001
Formalin . .	i. plant.							261 ± 15 (9)	0,1	186 ± 24 (9)	0,001
NaCl						351 ± 29 (4)	< 0,2	275 ± 24 (4)	0,1		

Die eingeklammerten Zahlen beziehen sich auf die Anzahl der Versuchstiere. Normwert der unbehandelten Tiere 303 ± 37 (26).

vermissen lassen. Man wird wohl annehmen müssen, daß einige Reizstoffe unabhängig von der Hypophyse irgendwie einen Einfluß auf die Nebenniere nehmen. Wahrscheinlich besteht er in einer direkten Affektion dieses Organs — es sei denn, daß man aus diesen Befunden auf das Vorhandensein von extrahypophysären Mechanismen mit adrenotropen Funktionen schließt. Das ist aber vorläufig eine unbeweisbare Hypothese. Konkret faßbar ist dagegen, daß alle untersuchten Reizstoffe bei Anwesenheit der Hypophyse über dieses Organ auf die Nebennieren einwirken und dort Veränderungen auslösen, welche jenen ähnlich sind,

Tabelle 3. *Ascorbinsäuregehalt der Nebennierenrinde Milligramm/100 g Frischgewicht. Hypophysektomierte Ratten*

Reizstoffe	Darreichungsform	nach 60′	P	nach 120′	P	nach 180′	P
Crotonöl	i. plant.	272 ± 30 (3)	$< 0{,}01$	285 ± 11 (13)	0,001	230 ± 16 (4)	$< 0{,}01$
Senföl	epicut.	128 ± 35 (4)	0,001				
Terpentinöl	i. plant.			305 ± 11 (10)	$< 0{,}05$	225 ± 31 (4)	$< 0{,}01$
Histamin	i. plant.			351 ± 21 (6)	0,30		
Eiereiweiß	i. plant.			360 ± 15 (8)	0,04		
Dextran	i. plant.			365 ± 18 (8)	0,40		
Formalin	i. plant.			380 ± 43 (8)	$> 0{,}40$		

Die eingeklammerten Zahlen beziehen sich auf die Anzahl der Versuchstiere. Normwert der hypophysektomierten Tiere 379 ± 59 (18)

die nach Verabreichung des adrenocorticotropen Hormons auftreten. Die biologische Bedeutung dieses Effektes bleibt vorläufig unklar. Offensichtlich wird durch diese Reaktion des HNS nicht der Hemmstoff der entzündlichen Zellreaktion Cortison und Cortisol aktiviert, da die akute lokale Reaktionsphase, gemessen am Schwellungszustand des Fußes, nach subplantarer Injektion der Reizstoffe an normalen und hypophysenlosen Tieren gleichartig ausfällt. Ebenso ist die Proliferation des Mesenchym nach Ausschaltung der Hypophyse bei den Reizstoffen, die diese Reaktion begünstigen, nicht gehemmt, wie die Befunde mit Crotonöl und Senföl im Fremdkörpergranulomtest zeigen. Man ist daher versucht,

anzunehmen, daß die Mitwirkung der Nebenniere eher dazu dienlich ist, die Proliferationsprozesse im Stützbindegewebe zu begünstigen und anzuregen als sie zu hemmen oder aufzuheben. Als Stütze für diese Auffassung läßt sich anführen, daß Romani mit Aldosteron beim Terpentinöl einen fördernden Effekt auf die örtlichen Reizvorgänge erzielen konnte. Außerdem begünstigen Aldosteron und Desoxycorticosteron nach Desaulles sowie Meier die Entwicklung des Fremdkörpergranuloms. Bekanntlich kann die Nebennierenrinde der Ratte nicht die gleiche Vielzahl von Steroiden mit zum Teil verschiedenartigen Wirkungen wie

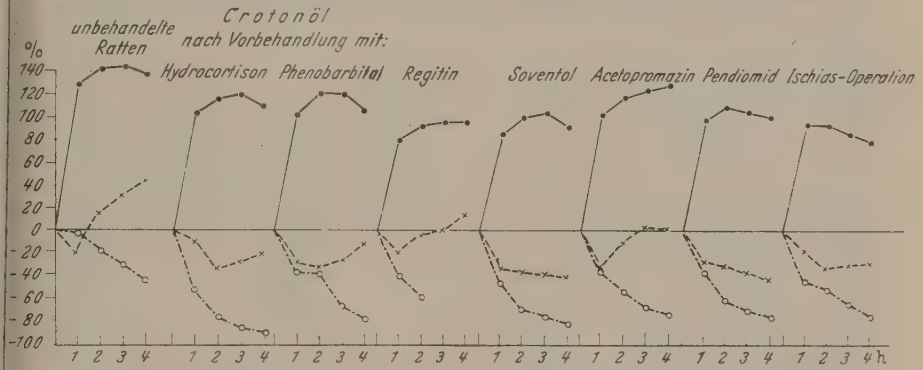


Abb. 3. Normale Ratten: Crotonöl: subplantare Applikation Vorbehandlung s.c. gleichzeitig; • —— • Schwellung Fuß; × — — — × Leukocyten; o — · — o Eosinophile

andere Tiere produzieren. Trotz dieser Ausnahmestellung scheint sie offenbar noch genügend Voraussetzungen zu enthalten, um ihre Leistung den jeweiligen Bedürfnissen differenziert anzupassen.

C. Die Wirkung der Reizstoffe an vorbehandelten Tieren

Wenn die Vorstellung zutrifft, daß nur ein Teil der Reizstoffphänomene im Bereich der primären Einwirkungsstelle als unmittelbare Folgeerscheinung der angewandten Substanzen aufzufassen ist und alle übrigen Vorgänge sekundär von der Einschaltung und Bildung chemischer Zwischenglieder abhängen, so wird man sich für die Folge der begleitenden Allgemeinsyndrome, insbesondere für die Aktivierung der Nebennieren fragen müssen, inwieweit diese Veränderungen durch eine direkte Einflußnahme der Reizstoffe zustande kommen oder ob auch sie nur durch sekundäre Mechanismen bedingt sind. Das bedeutet zugleich die Frage nach dem Signalisierungsmodus stellen, durch den der lokalisierte Prozeß die Regulation durch den Organismus wachruft. Dieses Übergreifen des Reizgeschehens vom eigentlichen Herdgebiet auf den Gesamtorganismus kann prinzipiell zwei Wege gehen: den nervalen oder den humoralen. In letzteren Falle könnten ursächlich als indirekt auslösende Faktoren eine Ausschüttung von Adrenalin bzw. die Freisetzung von Histamin in Frage

Tabelle 4. *Ascorbinsäure der Nebennierenrinde Milligramm/100 g Frischgewicht*

Vorbehandlung	Dos. mg/kg s. c.		P Norm/Vorbeh.	Reizstoffe: unvorbeh. Tiere		Reizstoffe nach		P Reizstoff/Vorbeh. + Reizstoff
Hydrocortison .	200,0	252 ± 20 (3)	0,2	Crotonöl	152 ± 14 (12)	Hydrocortison	166 ± 17 (4)	0,5
Phenobarbital .	100,0	202 ± 36 (4)	< 0,02	,,		Luminal	158 ± 14 (4)	> 0,9
Regitin . . .	1,0	354 ± 12 (3)	0,2	,,		Regitin	142 ± 54 (4)	> 0,9
Soventol . . .	1,0	251 ± 36 (7)	0,1	,,		Soventol	168 ± 13 (7)	> 0,9
Acetopromazin.	2,0	103 ± 10 (4)	0,001					
Acetopromazin.	0,5	196 ± 18 (7)	0,001	,,		Acetopromazin	100 ± 17 (4)	0,02
Pendiomid . .	2,0	280 ± 28 (7)	0,4	,,		Pendiomid	96 ± 17 (4)	< 0,02
Regitin	1,0	354 ± 12 (3)	0,2	Dextran	165 ± 16 (10)	Regitin	206 ± 30 (6)	0,2
Soventol . . .	1,0	251 ± 36 (7)	0,1	,,		Soventol	188 ± 14 (4)	> 0,5
Pendiomid . .	2,0	280 ± 28 (7)	0,4	,,		Pendiomid	117 ± 10 (4)	0,1
Regitin	1,0	354 ± 12 (3)	0,2	Eiereiweiß	169 ± 20 (10)	Regitin	117 ± 16 (6)	< 0,1

Tabelle 4 (*Fortsetzung*)

Soventol . . .	1,0	251 ± 36 (7)	0,1	Eiereiweiß		Soventol	156 ± 32 (3)	> 0,9
Pendiomid . .	2,0	280 ± 28 (7)	0,4	„		Pendiomid	158 ± 18 (3)	> 0,9
Regitin . . .	1,0	354 ± 12 (3)	0,2	Histamin	228 ± 12 (23)	Regitin	165 ± 20 (3)	0,1
Soventol . . .	1,0	251 ± 36 (7)	0,1	„		Soventol	260 ± 35 (3)	0,4
Pendiomid . .	2,0	280 ± 28 (7)	0,4	„		Pendiomid	132 ± 44 (3)	0,02

Die eingeklammerten Zahlen beziehen sich auf die Anzahl der Versuchstiere.

kommen. Daneben ist ein Abfall des Nebennierenrindenhormonspiegels infolge eines vermehrten peripheren Verbrauches in Betracht zu ziehen. Diese Fragestellung ist durch eine Vorbehandlung der Tiere mit antagonistisch wirksamen Stoffen bzw. durch eine Vorgabe von Nebennierenrindenhormon experimentell anzugehen, so daß es möglich ist, die Abhängigkeit der Reizstoffe von einem derartigen intermediären Geschehen zu überprüfen.

Soventol, Acetopromazin, Regitin und Pendiomid hemmen, wenn sie in kleinen Dosen gleichzeitig mit der subplantaren Applikation von Crotonöl zugeführt werden, das örtliche Reizgeschehen, wobei das Ausmaß der Schwellung je nach der Art der Vorbehandlung mehr oder weniger verringert wird. Dieses Ergebnis deckt sich mit den Befunden anderer Untersucher, die in großer Zahl ähnliche Effekte beschrieben haben (Kramer, Morrison, Briot, Halpern, Eichenberger, Meier, Gross, Kitchin, Wilhelmi, Theobald, Domenjoz, Jacques, Leger, Brown, Clark, Courvoisier, Fischer, Küchle, Marquardt). Ebenso schwächen Phenobarbital in narkotischer Dosis und Hydrocortison den örtlichen Prozeß ab. Parallel dazu unterbleibt in allen Versuchsserien die Leukocytose, und es resultiert im allgemeinen eine verstärkte und verlängerte leukopenische Phase, in der

wahrscheinlich ein Zeichen der verminderten Anpassung zu erblicken ist. Nur nach Acetopromazin und Regitin ist der Abfall der Leukocyten nicht verstärkt; auch der sekundäre Anstieg bleibt innerhalb der eingehaltenen Prüfungszeit wenigstens andeutungsweise feststellbar. Alle Stoffe, welche eine Hemmung des örtlichen Reizvorganges bewirken, sind demnach imstande, bestimmte Allgemeinsyndrome abzuschwächen oder zu unterdrücken.

Unbeeinflußt bleiben dagegen der Eosinophilensturz und der Abfall der Ascorbinsäure, die in gleichem Umfange wie an normalen Ratten an den vorbehandelten Tieren eintreten. Man muß allerdings berücksichtigen, daß, abgesehen von Pendiomid und Regitin, alle übrigen zur Vorbehandlung benutzten Stoffe selbst den Ascorbinsäuregehalt der Nebennieren angreifen. Die Crotonölzugabe bewirkt jedoch einen weiteren

Tabelle 5. *Ascorbinsäuregehalt der Nebennierenrinde Milligramm/100 g Frischgewicht*

zuvor i. plant.	normale Tiere	nach Durchschneidung des N. ischiadicus	P_1 Norm/Reizstoff + Ischias op.	P_2 Reizstoff/Reizstoff + Ischias op.
Crotonöl	152 ± 14 (12)	240 ± 18 (11)	0,01	0,001
Eiereiweiß	169 ± 20 (10)	241 ± 14 (6)	$< 0{,}05$	0,02
Dextran	165 ± 16 (10)	249 ± 31 (7)	$< 0{,}1$	$< 0{,}05$
Histamin	228 ± 12 (23)	231 ± 21 (4)	0,05	$> 0{,}9$

Die eingeklammerten Zahlen beziehen sich auf die Anzahl der Versuchstiere.

Abfall der Ascorbinsäurewerte, so daß in jedem Falle eine signifikante Differenz resultiert. Übereinstimmend mit diesen Ergebnissen haben Briggs u. Munson gefunden, daß Pentobarbital den Depletionseffekt des Histamins nicht zu hindern vermag. Ebenso kann Chlorpromazin die durch ACTH bzw. Formalin ausgelöste Eosinopenie nicht abschwächen (Kresbach u. Sailer).

Die Depletionswirkung des Crotonöls ist bei subplantarer Darreichung ausschließlich nach der Durchschneidung des N. ischiadicus zu verhindern. Gleichzeitig unterbleibt die Leukocytose. Auch der örtliche Prozeß fällt geringgradiger aus, wie der verringerte Schwellungszustand zeigt. Der Eosinophilensturz bleibt dagegen selbst nach Unterbrechung der nervösen sensiblen Elemente unverändert erhalten (s. Abb. 3). Es gibt wahrscheinlich höchst differenzierte Wirkungsweisen und voneinander unabhängige Mediatoren, durch die eine Beeinflussung der Eosinophilen und des Ascorbinsäuregehaltes in den Nebennieren zustande kommt.

Die Aufhebung des Depletionseffektes nach Durchschneidung des Ischiadicus läßt sich in gleicher Weise wie bei Crotonöl für Dextran und Eiereiweiß an normalen Ratten feststellen. Den im Ischiadicus verlaufenden sensiblen Elementen muß demnach eine besondere Bedeutung zukommen. Bei Histamin läuft die Beeinflussung der Nebennieren offenbar auf völlig anderen Wegen, da hier nur das Antihistamin Soventol prophylaktisch wirksam ist. Es scheint jedoch die Wahl des benutzten Antihistamins eine Rolle zu spielen. Ein positiver Antagonismus mit Aufhebung des durch Histamin verursachten Abfalles der Nebennieren-Ascorbinsäure ist erzielt worden mit Phenergan (Fortier) sowie Pyribenzamin und Phenoxadrin (Tepperman). Mit Benadryl und Neoantergan läßt sich der Histamineffekt auf die Nebennieren nicht aufhalten (Nasmyth). Auch Chlorpromazin, das selbst den Ascorbinsäuregehalt der Nebennieren herabsetzt, hemmt nur in großen Dosen den Histamin-Effekt (Nasmyth).

Tabelle 6. *Ascorbinsäuregehalt der Nebennierenrinde Milligramm/100 g Frischgewicht*

nach Ischiadicus-Durchschneidung 7 Tage zuvor	+ Hypophysektomie 72 Std zuvor
ohne Reizstoff-Zugabe	275 ± 21 (8)
nach Crotonöl	263 ± 22 (7)

Die eingeklammerten Zahlen beziehen sich auf die Anzahl der Versuchstiere.

Auch beim hypophysenlosen Tier vermag Crotonöl den Ascorbinsäure-Gehalt der Nebenniere nach der Durchschneidung des Ischiadicus nicht anzutasten, wie der Vergleich der beiden Versuchsreihen mit und ohne Zufuhr von Crotonöl lehrt, wobei jeweils 7 Tage vor der Bestimmung der Ascorbinsäure der Nerv durchschnitten und 72 Std zuvor die Hypophyse entfernt wurde.

Diskussion der Versuchsergebnisse

Es fällt schwer, für die vielverzweigte und verwickelte Wirkung von Reizstoffen eine einfache Erklärung zu geben oder gar eine Systematik der verschiedenen Wirkungstypen aus dem vorgelegten Material abzuleiten. Dafür reicht schon die Auswahl an Stoffen nicht aus. Außerdem sind ihre Reaktionsweisen in der akuten Einwirkungsphase mit der Messung des Schwellungszustandes nur summarisch erfaßt. Ebenso wurden die nervalen Regulationsvorgänge und die geweblichen Folgeerscheinungen im Laufe der reparativen Phase ausschließlich von dem Gesichtspunkt der Blutbildveränderungen und der Beeinflussung des HNS betrachtet. Aus diesen Gründen kommen die Phänomene weniger mit ihrer Vielgestaltigkeit als in ihren gemeinsamen Zügen zur Darstellung, zumal die verschiedenen Reizstoffvarianten trotz aller Unterschiede zu ähnlichen Effekten führen. Selbst am Ort ihrer

Einwirkung ist die Spezifität ihres Wirkungstypus eine begrenzte, weil die detaillierten Mechanismen sich in dem komplexen System eines Zellverbandes vollziehen. Dieser ist befähigt, auf Reize zu antworten: zu reagieren. Infolgedessen bleiben die lokalen Reizvorgänge schon in ihren Anfangsphasen beim ersten Zusammentreffen mit den Geweben nicht bei der Beeinflussung eines einzigen Angriffspunktes stehen. Sie werden vielmehr zwangsläufig in die gewebliche Funktionsgemeinschaft und den Stoffwechselumsatz der Gewebe mit einbezogen. So ergibt sich in der Regel eine Resultante aus einer Reihe von Faktoren, die ihrem Charakter nach als primäre oder sekundäre zu bezeichnen sind und in ihrer Gesamtheit eine relativ einförmige Beeinflussung der Strukturen und Funktionen im Bereich ihrer Entstehungsorte bewirken.

Dieses örtliche Geschehen läßt sich als Gesamtkomplex mit der Schwellungsmessung in seinen zeitlichen Abläufen verfolgen, ohne die Skala der Teilphänomene zu präzisieren. Man wird daher erwarten können, daß die beobachteten Effekte in diesem Test bei allen Reizstoffen ziemlich gleichartig ausfallen. Dieser lokale Prozeß wird durch die Entfernung der Hypophyse bei keinem der untersuchten Reizstoffe in nennenswertem Umfange gehemmt. Der Ablauf der örtlichen Gewebsreaktionen scheint somit nicht rückläufig einer innersekretorischen Regulation von seiten des HNS zu unterstehen oder durch dieses entscheidend gesteuert zu werden.

Nicht alle Reizstoffe enthalten bei längerer Einwirkungsdauer eine granulomfördernde Wirkung, wie sie Crotonöl, Terpentinöl und Senföl ausüben. In dieser Hinsicht bestehen demnach eindeutige Unterschiede bei den verschiedenen Reizstoffen. Soweit ihnen ein Effekt auf das Granulomwachstum zukommt, bleibt dieser auch nach dem Ausfall der Hypophyse erhalten. In seinen Ausmaßen ist er aber unter diesen Versuchsbedingungen stark beschränkt. Er muß daher wohl mit direkten wie mit indirekten Wirkungskomponenten gerechnet werden, durch die die Proliferationsvorgänge bei Anwesenheit der Hypophyse stärker begünstigt werden. Zugunsten eines Eingreifens von humoralen Faktoren läßt sich anführen, daß Aldosteron beim Terpentinöl-Absceß den Ablauf der Entzündungserscheinung steigert und im Fremdkörpergranulomtest die Entwicklung des Granulationsgewebes fördert. Weiterhin ist zu bedenken, daß ausschließlich die Reizstoffe eine Bindegewebsreaktion auslösen, die noch am hypophysenlosen Tier einen Depletionseffekt setzen, während alle anderen chemischen Reize unter den gleichen Versuchsbedingungen jede dieser Wirkungskomponenten vermissen lassen.

Der Reizvorgang, der primär ein lokaler Prozeß ist, unterliegt zugleich der Regulation des Gesamtorganismus, wie die begleitenden Allgemeinsyndrome in Form der Verschiebung des Blutbildes, des Abfalles

der Eosinophilen und der Abnahme der Ascorbinsäure-Werte in den Nebennieren zeigen. Alle diese Wirkungskomponenten sind als unspezifische Effekte anzusprechen, da sie in völliger Gleichförmigkeit, unabhängig von der Beschaffenheit des einzelnen Reizstoffes und der Natur ihres primären Wirkungscharakters auftreten. Sie sind daher für die Charakterisierung der Wirkstofftypen nicht geeignet.

Nach der Hypophysektomie verschwinden bei der Mehrzahl der Reizstoffe diese Phänomene völlig. Man darf daher wohl folgern, daß diese Stoffe über die Hypophyse auf die Nebennieren einwirken und dort einen ähnlichen Effekt verursachen, wie ihn das adrenocorticotrope Hormon bewirkt. Ob damit eine Steuerung des Entzündungsgeschehens statthat, die je nach der Art des aktivierten Hormons Hemmung oder Förderung bedeuten kann, ist aus den Befunden nicht abzulesen. Für die lokale Reaktionsphase kann dieses Geschehen nicht sehr bedeutungsvoll sein, da der Schwellungszustand nach subplantarer Injektion der Reizstoffe an normalen und hypophysenlosen Tieren nahezu gleichartig ausfällt. Eine klare Aussage ist hingegen möglich, auf welchen Wegen vom Herdgebiet aus die Beeinflussung der Nebennieren erfolgt, da der Depletionseffekt der Reizstoffe ausschließlich durch eine Durchschneidung des N. ischiadicus zu verhindern ist. Den im N. ischiadicus verlaufenden sensiblen Fasern scheint also in diesem Falle eine besondere Bedeutung zuzukommen. Dies gilt jedoch nicht mit derselben Gleichförmigkeit für das Verhalten der Eosinophilen, die nach der Durchschneidung des N. ischiadicus beim Crotonöl noch abfallen. Die Wechselwirkung zwischen Organismus und dem Reizgebiet verläuft offenbar auf verschiedenen Wegen. Nur ein Teil der Mediatoren benutzt die Nervenbahnen, während andere Signalisierungsmodi humoral geleitet werden.

Selbst am hypophysenlosen Tier sind Crotonöl, Terpentinöl und Senföl imstande, den Ascorbinsäure-Gehalt der Nebennieren zu senken, während alle übrigen Reizstoffe unter diesen Versuchsbedingungen wirkungslos bleiben. Man wird damit rechnen müssen, daß gewisse Reizstoffe unabhängig von der Hypophyse auf die Nebennieren einwirken können. Es gibt also unter den Reizstoffen einzelne Typen mit einer besonderen Wirkungsart, die über die örtlichen Gewebsvorgänge hinausgreift und selbst in den vielgestaltigen Regulationsmechanismen des Organismus noch die Charakteristik des einwirkenden Agens erkennen läßt.

Zusammenfassung

Für die Analyse der Wirkung von Reizstoffen wurde ihr Einfluß auf die weißen Blutkörperchen, die Eosinophilen und den Ascorbinsäure-Gehalt der Nebennieren an normalen und hypophysektomierten Ratten untersucht und zusätzlich der Verlauf der Schwellungsvorgänge und die Beeinflussung vom Granulomgewebe gemessen.

Crotonöl, Senföl sowie Terpentinöl nehmen unter den Reizstoffen eine Sonderstellung ein, da sie auch am hypophysektomierten Tier einen Eosinophilensturz und eine Depletion der Nebennieren bewirken. Zudem fördern Crotonöl, Terpentinöl und Senföl im Fremdkörpergranulomtest als einzige unter den ausgewählten Reizstoffen das Granulomwachstum. Eine Durchschneidung des N. ischiadicus vermag bei intraplantarer Injektion der Reizstoffe die Abnahme des Ascorbinsäure-Gehaltes in den Nebennieren zu verhindern. Bei Histamin ist durch eine Vorbehandlung mit dem Antihistamin Soventol der gleiche Effekt zu erreichen. Es wird diskutiert, daß bei einzelnen Reizstofftypen selbst die Vorgänge des reaktiven Regulationsgeschehens von der Beschaffenheit des einwirkenden Agens mittelbar abhängen.

Literatur

Avon, E., J. Chambon et A. Voisoin: Bull. Acad. Nat. Méd. (Paris) **137**, 417 (1953).

Blanchard, K. C., E. H. Dearborn, Th. Maren and E. K. Marshall jr.: Bull. Johns Hopkins Hosp. **86**, 83 (1950).

Bohnstedt, R. M., u. W. Lanz: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **224**, 262 (1955).

Briggs, F. N., and Pl. Munson: Endocrinology (Springfield, Ill.) **57**, 205 (1955).

Briot, M., et B. N. Halpern: Arch. internat. Pharmacodynamie **82**, 247 (1950); **91**, 291 (1952); C. r. Soc. Biol. (Paris) **143**, 822, 825 (1949); **146**, 15, 21 (1952).

Brown, B. B., and H. W. Werner J. Labor. a. Clin. Med. **33**, 325 (1948).

Casentini, S., C. Colizzi, M. Rossanda et F. Vaccari: Arch. internat. Pharmacodynamie **93**, 65 (1953).

Clark, W. G., and E. M. MacKay: Proc. Soc. Exper. Biol. a. Med. **71**, 86 (1949).

Courvoisier, S., et R. Ducrot: Arch. internat. Pharmacodynamie **102**, 33 (1955).

Courvoisier, S., J. Fournel, R. Ducroit, M. Kolsky et P. Koetschet: Arch. internat. Pharmacodynamie **92**, 305, 1953.

Desaulles, P., W. Schuler u. R. Meier: Experientia (Basel) **11**, 68 (1955).

Domenjoz, R., W. Theobald, E. G. Stenger et R. Mörsdorf: Arch. internat. Pharmacodynamie **103**, 341 (1955).

Domenjoz, R., K. Mörsdorf u. E. G. Stenger: Arzneimittelforsch. **6**, 591 (1956).

Eichenberger, E., M. Schmidhauser u. G. Rufener: Helvet. Physiol. Acta **10**, 505 (1952).

Fischer, R., u. J. Frey: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **213**, 392 (1951).

Fortier, Cl., et R. Guillemin: Ann. d'Endocrin. **14**, 42 (1953).

Gross, F.: Arch exper. Path. u. Pharmakol. **211**, 421 (1950); Schweiz. med. Wschr. **1950**, 697.

Halpern, B. N.: Presse méd. **1949**, 949.

Halpern, B. N., u. S. A. Benos: Bull Acad. suisse Sci. med. **8**, 110 (1952).

Heubner, W.: Arch. exper. Path u. Pharmakol. **107**, 129 (1925); Dtsch. med. Wschr. **1933**, 39.

Hoff, F.: Dtsch. med Wschr. **1952**, 65, 112; **1953**, 504, 600.

Jacques, R.: Dermatologica (Basel) **100**, 153 (1850).

Kitchin, H. W., W. Y .Smith, G. L. Wallace jr., M. Perkins et J. L. Morrison: Arch. internat. Pharmacodynamie **99**, 17 (1954).

Kramer, M.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **225**, 82 (1955); **228**, 233, 302 (1956).

Kresbach, H., u. S. Sailer: Wien. klin. Wschr. **1956**, 520.
Küchle, H. J., u. H. Wegener: Z. exper. Med. **118**, 136 (1951).
Leger, J., and G. Masson: Ann. Allergy **1948**, 631.
Leger, J., G. Masson and J. L. Prado: Proc. Soc. Exper. Biol. a. Med. **64**, 366 (1947).
Marquardt, P., zit. nach Heilmeyer, L.: Verh. dtsch. Ges. inn. Med. **62**, 249 (1956).
Meier, R.: Kongr. Int. Allergie, **1951**, Zürich-Basel.
Meier, R., P. Desaulles u. B. Schär: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **224**, 104 (1955); Verh. Naturf. Ges. Basel **67**, 447 (1956).
Meier, R., F. Gross u. P. Desaulles: Kli. Wschr. **1951**, 653.
Mörsdorf, K.: Arch. internat. Pharmacodynamie **102**, 249 (1955).
Morrison, J. L., A. P. Richardson et W. L. Bloom: Arch. internat. Pharmacodynamie **88**, 98 (1951).
Nasmyth, P. A.: J. of Physiol. **112**, 215 (1951); Brit. J. Pharmacol. **10**, 336 (1955).
Ohi, T.: Fol. endocrinol. jap. **31**, 465 (1956).
Roe, J. H., and C. A. Kuether: J. of Biol. Chem. **147**, 399 (1943).
Romani, J. D.: C. r. Soc. Biol. (Paris) **149**, 937 (1955).
Sayers, G., and M. Sayers: Endocrinology (Springfield, Ill.) **40**, 256 (1947); Ann. N. Y. Acad. Sci. **50**, 522 (1949).
Selye, H.: The Mechanism of Inflammation. Internat. Symp. Montreal 1953. The story of the adaptation-syndrome. Montreal 1952.
Tepperman, J., N. Rakieten, J. H. Birnie, H. F. Diermeier and J. M. De Witt: J. Pharmacol. a. Exper. Ther. **101**, 144 (1951).
Theobald, W.: Arch. internat. Pharmacodynamie **103**, 17 (1955).
Theobald, W., et R. Domenjoz: Arch. internat. Pharmacodynamie **104**, 453 (1956).
Wilhelmi, G., u. R. Domenjoz: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **212**, 125 (1950/51); Arch. internat. Pharmacodynamie **85**, 129 (1951).

Prof. Dr. H. Haas, Pharmakolog. Inst. der Knoll AG, Ludwigshafen/Rhein

Arch. exper. Path. u. Pharmakol., Bd. 232, S. 562—572 (1958)

Aus dem Physiologischen Institut der Universität Heidelberg
(Direktor: Professor Dr. Hans Schaefer)

Über eine calciumähnliche Wirkung von Phenylbutazon (Butazolidin)*

Von
Walter Baust und Hans Günter Kraatz

Mit 7 Textabbildungen

(Eingegangen am 8. August 1957)

Die Frage nach dem Wirkungsmechanismus von Butazolidin ist oft erörtert worden[11,15,16,18,21]. Neue Untersuchungen aus unserem Institut[2] ließen die Vermutung einer Calcium-ähnlichen Wirkung von Butazolidin aufkommen. Es wurde nämlich durch Versuche an den Hautreceptoren des Frosches festgestellt, daß die Impulsfrequenz bei mechanischer Reizung der Receptoren nach Entzug der Calcium-Ionen in der Ringer-Lösung bei den Kontrollversuchen um etwa 100% erhöht wurde, während sich dieses Phänomen durch eine 7stündige Einwirkungsdauer von Butazolidin völlig aufheben ließ.

Dieser Befund gab Anlaß zu weiteren Untersuchungen, in denen geklärt werden sollte, ob Butazolidin auch an anderer Stelle calciumähnliche Wirkungen entfaltet. Dabei lag der Gedanke der Beeinflußbarkeit der calcipriven Tetanie natürlich nahe. Außerdem sollte das Verhalten von Butazolidin im Sinne einer Calciumwirkung auf das Myokard und auf das Aktionspotential des Purkinje-Fadens sowie auf die motorische Endplatte untersucht werden. Bei allen unseren Versuchen wurden Dosen in der Größenordnung von 20--200 mg-% Butazolidin verwendet, da bei geringeren Konzentrationen die Effekte weniger deutlich sind. Untersuchungen mit Konzentrationen, die den therapeutischen Blutspiegel beim Menschen nahekommen (nach Burns et al.[4] etwa 5—10 mg-%) lieferten bei unserer Versuchsanordnung keine eindeutigen Ergebnisse.

Methodik

a) Tetanie. Die Versuche wurden an 5 Monate alten, 260—300 g schweren männlichen Ratten durchgeführt. Zur Erzeugung der Tetanie verwendeten wir 3,8% Natrium-Citrat (DAB 6), welches in einer Dosis von 3 ml/100 g intraperitoneal injiziert wurde. Diese Methode hat den Vorteil, daß, durch die langsame Resorption, über einen Zeitraum von 2 Std, beginnend etwa 45 min nach der Injektion, tetanische Anfälle auftreten. Neben den Kontrollversuchen wurde bei

* Butazolidin „GEIGY".

einem Teil der Tiere 30 min *nach* der Citratinjektion Butazolidin appliziert (50 mg/kg intraperitoneal), bei einem anderen Teil 1 Std *vor* der Citratinjektion. Es wurden registriert: a) die Muskelaktionspotentiale der Beuger der rechten Hinterextremität mittels Nadelelektrode. b) das Mechanogramm derselben Muskelgruppe mittels eines Kapazitäts-Spannungsmessers, c) die Atmung, gemessen an der Thoraxweite durch einen Venenpulsabnehmer (Boucke-Brecht). Die drei Vorgänge wurden über RC-Verstärker verstärkt und auf einem Kathodenstrahloszillographen mit 3 Systemen registriert. Die Dauer der einzelnen Anfälle wurde mit Stoppuhr gemessen.

b) Myokard. Die Versuche wurden an Myokardstreifen des Froschherzens durchgeführt, bei dem Vorhöfe und AV-Knoten entfernt worden waren. Das Präparat wurde elektrisch gereizt und die Kontraktionen über einen Schreibhebel auf einem Rußkymographion registriert. Die mit konstantem Zeitvolumen durchfließende Ringer-Lösung wurde mit O_2 gesättigt. Die Aktionspotentiale des Purkinje-Fadens wurden mit Mikroelektroden abgeleitet. (Einzelheiten der Methodik siehe bei Trautwein u. Zink[19]).

c) Motorische Endplatte. Für die Versuche wurden Sommer-Frösche (Rana esculenta) verwendet. Die Experimente mit Außenableitungen wurden am Nerv-Muskelpräparat des M. sartorius durchgeführt. Der Muskel wurde in natürlicher Länge zwischen 2 Klemmen und einer Schale mit Ringer-Lösung gehalten. Die Badelösung war mit Paraffin überschichtet; durch Senken des Tischchens, das die Schale trug, konnte das Präparat zum Ableiten jeweils in das Paraffin gehoben werden, ohne daß die Ableiteelektroden sich verschoben. Die eine der Elektroden lag an der distalen Sehne des Muskels; mit der anderen wurde durch Verschiebung längs des Muskels der Endplattenfocus des proximalen Muskelteils eingestellt. Es wurde alle 2 min ein einzelnes Endplattenpotential abgeleitet; dazwischen wurde das Präparat immer gebadet.

Die intracellulären Ableitungen wurden durch Einstich einer mit 3 Mol KCl gefüllten Glascapillare vorgenommen. Der Spitzendurchmesser der Capillaren lag unter 0,5 μ und ihr Widerstand betrug 20—30 Megohm. Hierbei wurde als Präparat der M. ext. longus dig. IV mit N. fibularis verwendet. (Weitere Einzelheiten siehe [13]). In allen Versuchen lag der p_H-Wert zwischen 7,2 und 7,4.

Ergebnisse

1. Wirkung von Butazolidin auf die calciprive Tetanie

Die auftretenden Anfälle wurden von uns (modifiziert nach Bomskov[3]) in 4 Stadien eingeteilt:

Stadium I: erhöhte Aktivität im Elektromyogramm.
Stadium II: Zuckungen einzelner Muskelgruppen.
Stadium III: synchronisierte Zuckungen des gesamten Tieres.
Stadium IV: starke epileptiforme Krämpfe mit zeitweiligem Aussetzen der Atmung.

Bei den Kontrollversuchen zeigte sich der in Abb. 1a angegebene Verauf der Anfälle. Man sieht, daß das Maximum etwa $1^1/_2$—2 Std nach der Citratinjektion erreicht ist. Die Abb. 2b zeigt das Stadium III eines solchen Anfalles. Die Atmung ist ebenfalls von tetanischen Zuckungen überlagert und in ihrer Tiefe unregelmäßig.

In den Fällen, bei denen $^1/_2$ Std nach Citratinjektion Butazolidin injiziert wurde (Abb. 1b), blieben massive tetanische Anfälle aus. Abb. 2a[1]. Es zeigte sich lediglich zu der Zeit, zu der nach den Kontrollversuchen das Maximum der Tetanie zu erwarten gewesen wäre, eine intermittierende erhöhte Aktivität im Elektromyogramm (Stadium I), bisweilen

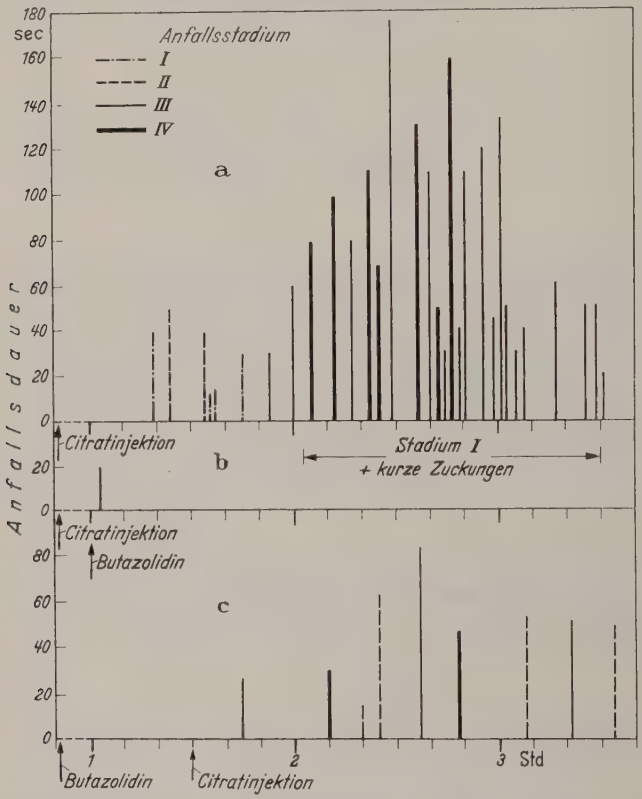


Abb. 1. Dauer und Häufigkeit der Anfälle bei der calcipriven Tetanie, ausgelöst durch intraperitoneale Injektion von 3,8%igem Natrium-Citrat 3 ml/100 g Tier. (Erklärung der 4 Stadien siehe unter Ergebnisse 1.) Zu den in der Abb. bezeichneten Zeitpunkten der Butazolidininjektion betrug die Dosis 50 mg/kg. Die Ordinate gibt die Anfallsdauer, die Abszisse den zeitlichen Verlauf an. a Anfälle bei einem Kontrollversuch. b Verhalten des Tieres bei Butazolidingabe, $^1/_2$ Std nach Citratinjektion. Nur Anfälle des Stadium I. (Der eine Anfall unmittelbar nach der Butazolidin-Injektion tritt zu einer Zeit auf, zu der das Butazolidin noch nicht resorbiert ist. c Butazolidin-Gabe 1 Std vor der Citratinjektion. Der erste Anfall liegt hier früher als bei den Kontrollen (a)

auch kurze Zuckungen oder Anfälle des Stadiums II (Abb. 1b). In den Fällen, in denen die Butazolidininjektion 1 Std vor der Citratinjektion erfolgte, traten hingegen einige Anfälle auf, deren Häufigkeit und Dauer jedoch wesentlich geringer war als die der Kontrollversuche (Abb. 1c). Es ist jedoch bemerkenswert, daß der erste Anfall bereits 10 min nach Citratgabe auftrat, was bei den Kontrollen nie der Fall war.

In einer dritten Versuchsserie wurden 10 Tiere über einen Zeitraum von 14 Tagen mit Butazolidin vorbehandelt. (Dosis 10 mg/kg pro die.) Die Reaktion auf Citratinjektion war wie bei den unvorbehandelten

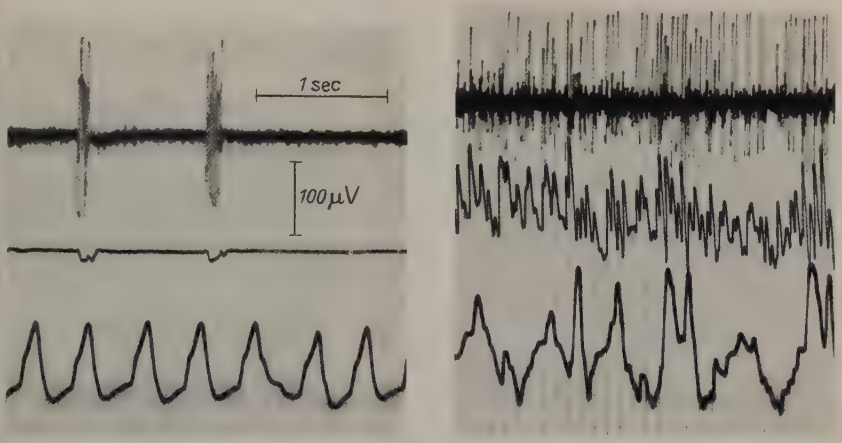


Abb. 2a Abb. 2b

Abb. 2. Muskelaktionspotentiale (oben), Mechanogramm (Mitte), und Atmung (unten) 2 Std nach Citratinjektion a bei einem Butazolidintier, b bei einem Kontrolltier (Stadium III). In der Abb. a sind lediglich 2 kurze Zuckungen sichtbar

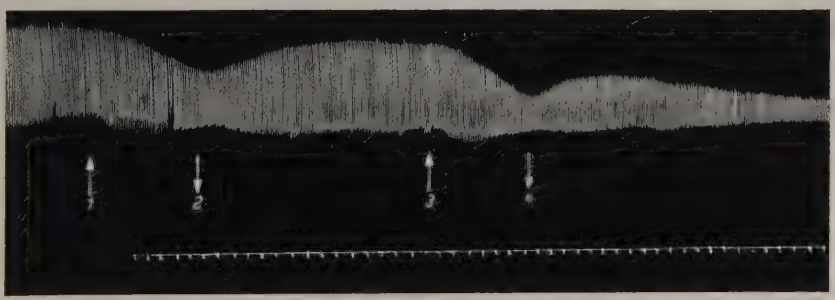


Abb. 3. Kontraktionen eines Myokardstreifens vom Frosch. Zwischen den Marken *1* und *2* Ca^{++}-freie Ringer-Lösung, zwischen *3* und *4* Ca^{++}-freie Ringer-Lösung mit Butazolidin 100 mg-%. Nach 4 keine volle Rückkehr zur Ausgangsamplitude und zunehmende Verkleinerung der Kontraktionshöhe. Abstand der Zeitmarken 0,25 sec

Tieren. Es traten massive tetanische Anfälle auf, wie in der Abb. 1a für die Kontrolltiere dargestellt wurde. Eine gesonderte Darstellung erübrigt sich somit.

2. Wirkung von Butazolidin auf das Myokard

Auf Grund der Tatsache, daß Calciummangel eine negativ inotrope Wirkung auf das Myokard ausübt[5], wurde in 7 Versuchen die Möglichkeit geprüft, diesen Effekt mit Butazolidin aufzuheben. Die Abb. 3 zeigt den charakteristischen Verlauf eines solchen Versuches. Zwischen

den Markierungen 1 und 2 wurde das Präparat mit calciumfreier Ringer-Lösung umspült. Man sieht das Absinken der diastolischen Fußpunkte sowie das Kleinerwerden der Kontraktionen. Der Effekt ist auf Calciumgabe voll reversibel. Zwischen den Markierungen 3 und 4 wurde mit calciumfreier Ringer-Lösung mit einem Zusatz von 100 mg-% Butazolin umspült. Nach gleicher Zeit ist die Kontraktionshöhe stärker abgesunken als im ersten Fall (Tab. 1).

Tabelle 1

	Ca^{++} freie Ringer-Kontrolle	Ca^{++} freie Ringer + Butazolidin
Ausgangsamplitude	100%	100%
nach 1,6 sec in Ca^{++} freier Ringer . .	65%	40%
nach 1,4 sec wieder in normaler Ringer	100%	65%
7 sec nach Beginn der Butazolidin-Einwirkung	—	30%

Auch erweist sich dieser Effekt als nicht voll reversibel. Es zeigt sich sogar eine progrediente Abnahme der Kontraktionshöhe. Demnach ist also Butazolidin bezüglich der Inotropie kein Calciumersatz; es hat sogar im Gegenteil eine eigene negativ inotrope Wirkung. In gesonderten Versuchen, in denen kein Ca-Mangel gesetzt wurde, konnte festgestellt werden, daß nach 8 min Einwirkungsdauer von Butazolidin (100 mg-%) keine Kontraktionen mehr auslösbar waren.

Möglicherweise deutet sich hierbei ein Zusammenhang mit der klinischen Beobachtung vereinzelter Herzinsuffizienzen an, die nach Butazolidinmedikation beobachtet wurden[18].

Am Aktionspotential des excidierten Purkinje-Fadens (Hund) konnte gezeigt werden (unveröffentlichter Versuch von Trautwein u. Dudel), daß die durch Calciummangel hervorgerufene Veränderung durch Butazolidin weitgehend aufzuheben ist (Abb. 4). Die negativ inotrope Wirkung des Calciummangels blieb allerdings auch hier durch Butazolidin unbeeinflußt. Im einzelnen zeigt sich, daß die Steilheit des Generatorpotentials unter Calciummangel (0,9 mMol) von 6 mV/sec auf 24 mV/sec zunahm. Nach 5 min Butazolidinwirkung ging die Steilheit auf 12 mV/sec zurück. Die Höhe des Aktionspotentials nahm unter Calciummangel von 115 mV auf 48 mV ab und stieg unter 100 mg-% Butazolidin wieder auf 93 mV an. Die durch Calciummangel am Aktionspotential hervorgerufenen Veränderungen lassen sich also durch Butazolidin wieder weitgehend normalisieren.

3. Untersuchungen an der motorischen Endplatte

Wird an einem Nerv-Muskelpräparat das Auftreten von Kontraktionen durch Blockierung der neuromuskulären Übertragung verhindert und das Auftreten von Muskelaktionspotentialen damit vermieden, so

läßt sich in der Endplattenregion des Muskels auf Nervenreiz das Endplattenpotential darstellen[10]. Die Blockierung der Übertragung auf die Muskelfaser besteht nämlich darin, daß die Amplitude des Endplattenpotentials, welches sonst fortgeleitete Muskelaktionspotentiale auslöst, auf unterschwellige Werte erniedrigt wird. Dies ist einerseits möglich durch Curare, das postsynaptisch die Wirksamkeit des auf Nervenreiz

Abb. 4

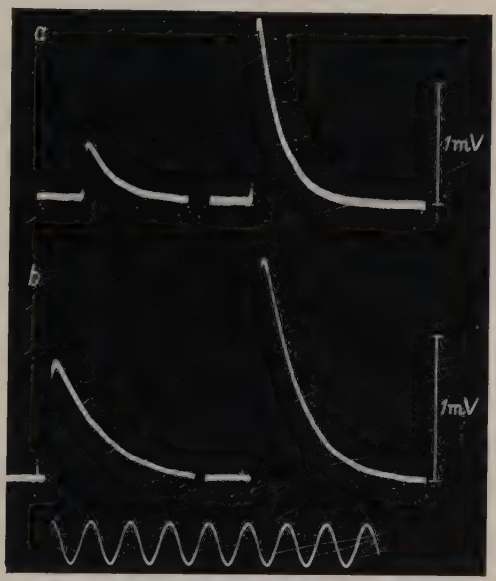


Abb. 5

Abb. 4. Monophasischer Aktionsstrom eines excidierten Purkinje-Fadens bei intracellulärer Ableitung (Hund). Oben: Normales Aktionspotential, Mitte: 7 min nach Calcium 0,9 mMol ($^1/_2$ des Normalen), unten: 1 min nach Butazolidin. Amplitudeneichung: 100 mV, Zeiteichung 500 msec. (Unveröffentlichter Versuch von Trautwein u. Dudel)

Abb. 5. Verhalten des Endplattenpotentials a unter Calciumgabe (0,6 mMol). b unter Butazolidingabe (200 mg-%). Links: vorher, rechts: nach Zugabe der Substanz. In beiden Fällen deutliche Zunahme der Amplitude. Das Auftreten von Muskelaktionspotentialen und Konzentrationen ist durch Beigabe von Magnesium 12 mMol zur Ringer-Lösung verhindert. M. sartorius, Außenabteilung. Ordinateneichung rechts: 1 mV. Zeiteichung: '50 Hz

freigesetzten Acetylcholins (ACh) vermindert, wodurch nur ein verkleinertes Endplattenpotential auftritt. Die Blockierung ist andererseits möglich durch Magnesium. Hierbei wird präsynaptisch durch eine einlaufende Erregung nur eine verringerte Menge ACh freigesetzt[6]. Calcium wirkt antagonistisch zu Magnesium; die durch Magnesium reduzierte Amplitude des Endplattenpotentials wird durch Calcium wieder vergrößert (s. Abb. 5a). Ein gleicher Erfolg tritt ein, wenn man statt Calcium nun Butazolidin einwirken läßt: das vorher verringerte Endplattenpotential erhält ebenfalls eine größere Amplitude (Abb. 5b).

Auch die zeitliche Entwicklung dieser gleichartigen Wirkung zeigt eine deutliche Ähnlichkeit. Wählt man Konzentrationen von Calcium und Butazolidin, die zu einer Amplitudenvergrößerung von etwa gleichem Ausmaß führen, so ist zu erkennen (siehe Abb. 6), daß der Effekt sich bei beiden Substanzen sofort nach Zugabe zu entwickeln beginnt, daß er nach nahezu gleicher Zeit sein Maximum erreicht und daß die neue Amplitude beibehalten wird (über 20 min weiter beobachtet).

Der Erfolg ist bei der genannten Butazolidin-Konzentration besonders augenfällig; er tritt aber auch bei geringeren Konzentrationen noch erkennbar auf. So beträgt bei 20 mg-% Butazolidin die Amplitudenzunahme des Endplattenpotentials immer noch 25% des Ausgangswertes.

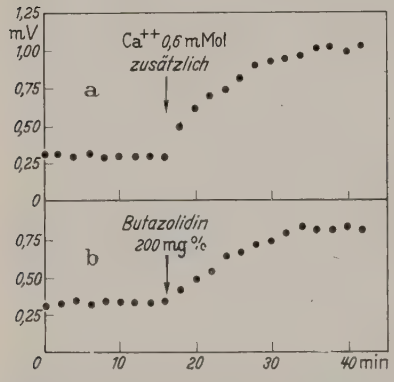


Abb. 6. Amplitude des Endplattenpotentials in zeitlicher Abhängigkeit von der Einwirkung von Calcium (a) und von Butazolidin (b). Messungen im Abstand von 2 min; nach 9 vorangehenden Messungen mit gleichem Ergebnis jeweils Zugabe der Substanz. In beiden Fällen sofort einsetzende Vergrößerung mit Maximalwert in 16—18 min nach Zugabe, anschließend nahezu konstant. Ringer-Lösung, Magnesium 14 mMol. M. sartorius, Außen ableitung

Es war nun zu klären, ob es sich — weiter in Analogie zum Calcium-Effekt — wirklich um eine präsynaptische Wirkung des Butazolidins handelt, oder ob der festgestellte Einfluß auf das Endplattenpotential durch postsynaptische Momente bedingt ist, z. B. durch eine Steigerung der Empfindlichkeit für ACh an der postsynaptischen Membran. Es wurde deswegen das Verhalten der einzelnen motorischen Endplatte untersucht durch intracelluläre Ableitung aus der Endplatten-Region einer Muskelfaser. Hierbei wird als Antwort auf einen Nervenreiz jeweils nur das Endplattenpotential dieser einzelnen Faser registriert. Ist seine Größe durch Magnesium genügend reduziert, so ist zu beobachten, daß nun nicht mehr jeder Nervenreiz zu einem Erfolg, einem Endplattenpotential führt; es treten in einem gewissen Prozentsatz Versager auf. Sorgfältige statistische Bearbeitung[7] hat gezeigt, daß durch den einlaufenden Nervenimpuls ACh immer nur in bestimmten „Quanten" freigesetzt werden kann und daß die Anzahl der freigesetzten ACh-„Quanten" schwankt. Unter einer genügenden Konzentration von Magnesium schwankt diese Anzahl nun zwischen 0 und wenigen solcher „Quanten". Ist sie zuerst häufig 0, d. h. treten zunächst viele Versager auf, und ändert sich durch irgendeinen Eingriff dies Verhalten, indem nachher der Prozentsatz der Versager geringer wird oder überhaupt keine Ausfälle

mehr eintreten, so läßt das auf eine Änderung der *prä*-synaptischen Funktion schließen. Bei *post*synaptischen Effekten dagegen ist keine solche sprungweise Änderung zu erwarten, sondern lediglich eine kontinuierliche Änderung der Endplattenpotential-Amplitude der Einzelfaser.

Butazolidin zeigt nun einen deutlichen Einfluß auf die Häufigkeit der Versager unter den Reizantworten. In dem in Abb. 7 wiedergegebenen Versuch fällt infolge des zugegebenen Magnesiums zunächst die Reizantwort sehr häufig aus und die noch eintretenden Reizerfolge sind sehr klein (Abb. 7a). Nach Einwirkung von Butazolidin aber treten keine Versager mehr auf und die Endplattenpotentiale haben an Größe zugenommen (Abb. 7b), was wiederum bei einer Beobachtungszeit von 20 min konstant bleibt. Die Zunahme des Prozentsatzes der Reizerfolge zeigt den präsynaptischen Wirkungsort; es liegt also auch hier das gleiche Verhalten vor, wie es von Calcium bekannt ist.

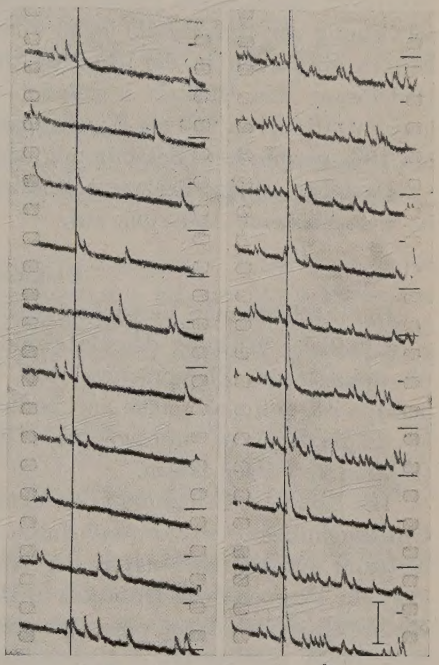


Abb. 7. Intracelluläre Ableitung des Endplattenpotentials einer einzelnen Faser und der spontanen Miniatur-Endplattenpotentiale. Die vertikale Linie bezeichnet den Zeitpunkt, an dem bei jedem Strahldurchgang ein Nervenreiz gesetzt wurde. a vorher: die Reizantwort ist klein und fällt häufig ganz aus. b $1^1/_2$ min nach Zugabe von Butazolidin: Amplitudenzunahme der Reizantwort und keine Versager mehr. Die Frequenz der Miniatur-Endplattenpotentiale wächst etwas, ohne daß deren durchschnittliche Größe zunimmt. Ringer-Lösung, Magnesium 16,5 mMol. Ordinateneichung: 1 mV Dauer eines Strahldurchganges/680 msec

Daneben sind in Abb. 7 viele spontane „Miniatur-Endplattenpotentiale" zu sehen, wie sie in der Endplatten-Region bei intracellulärer Ableitung gewöhnlich festgestellt werden und auf rein zufälliger, spontaner Freisetzung kleinster Beträge ACh beruhen[8]. Darin, daß diese nach Butazolidin im Durchschnitt nicht größer werden, drückt sich die Tatsache aus, daß die Größenänderung des Endplattenpotentials nicht durch postsynaptische Momente, also durch stärkere Empfindlichkeit der postsynaptischen Membran für ACh, verursacht sein kann; denn dann müßte mit dem Anwachsen des Endplattenpotentials auch eine Vergrößerung der Miniatur-Endplattenpotentiale verbunden sein.

Es zeigt sich aber eine Zunahme der Frequenz des Miniatur-Endplattenpotentials, das ist ein Effekt, der bei Calciumgabe nicht auftritt.

Als Ursache einer Frequenzzunahme der Miniatur-Endplattenpotentiale sind bisher starke osmotische Änderungen[9], die mechanische Dehnung des Muskels[13] sowie die Wirkung von Stoffwechsel-Inhibitoren bekannt[14,15]. Ein osmotischer Effekt kommt hier kaum in Betracht, da die bewirkten osmotischen Veränderungen gering sind. Über die Stoffwechselwirkung von Butazolidin ist zu wenig bekannt. Die Frequenzzunahme könnte aber auch in der Herabsetzung der Oberflächenspannung der Badelösung des Muskels begründet sein; denn bei einer Butazolidinkonzentration von 200 mg-% wird die Oberflächenspannung von Wasser um 10% vermindert (Bestimmung nach der Luftblasenmethode).

Das gleichzeitig abgelesene Membranpotential der Muskelfaser weist im Versuch keine Änderung auf.

Diskussion

Die beschriebenen Versuchsergebnisse lassen erkennen, daß eine calciumähnliche Wirkung des Butazolidins bei den untersuchten elektrophysiologischen Phänomenen und Erregbarkeitsveränderungen vorhanden ist, daß eine solche darüberhinaus aber nicht allgemeiner Natur ist, da die Versuche am Myokard sie hinsichtlich der mechanischen Kontraktion vermissen lassen.

Die Rolle des Calcium an der Membran stellt man sich nach neueren Untersuchungen[20] so vor, daß durch Bindung an den Carrier dieser für Natrium gesperrt und damit der Natriumeinstrom herabgesetzt wird. (Vgl. die Versuche von Hodgkin u. Huxley[12] mit der „voltage-clamp"-Methode). Würde man einen gleichen Wirkungsmechanismus für das Butazolidin postulieren, d. h. annehmen, daß es ebenfalls den Natriumeinstrom vermindert, so würde dies bedeuten, daß es entweder mit dem Carrier selbst eine Bindung eingeht oder die Bindung des Natrium an den Carrier auf irgendeine andere Weise vermindert.

Eine Einwirkung auf die Membran ist zudem auch vom physikalisch-chemischen Standpunkt aus möglich, da durch Butazolidin die Oberflächenspannung herabgesetzt wird.

Die Ergebnisse an der motorischen Endplatte ließen uns auch daran denken, daß Butazolidin Magnesium durch chemische Bindung oder Ausfällung unwirksam macht; solche Vorgänge sind möglich, spielen aber bei den von uns verwendeten Butazolidin- und Magnesium-Konzentrationen keine Rolle (Untersuchungen des Chemischen Laboratoriums der Fa. Geigy).

Bei Betrachtung des Verhaltens der verschiedenen Erregbarkeit an den untersuchten Gebilden fällt eine Ambivalenz der Butazolidinwirkung auf. Während es einerseits an den Schmerz- und Berührungsreceptoren der Froschhaut[2] sowie bei der calcipriven Tetanie der Ratte (Versuchsanordnung der Abb. 1 b) die Erregbarkeit herabsetzt, führt es andererseits

bei den Tetanieversuchen, bei denen Butazolidin *vor* dem Citrat verabfolgt wurde (indem der 1. Anfall früher auftritt), sowie an der motorischen Endplatte auf Nervenreiz und hinsichtlich der Spontanaktivität zu einer Steigerung.

Auf Grund der Beeinflußbarkeit der Tetanie durch Butazolidin wäre auch an eine Wirkung auf die Epithelkörperchen zu denken; auf Grund unserer Versuchsanordnung können wir hierüber jedoch noch nichts aussagen.

Zusammenfassung

1. Zur Frage einer calciumähnlichen Wirkung von Butazolidin wurde dessen Einfluß auf verschiedene durch Calcium beeinflußbare biologische Vorgänge untersucht.

2. Die Anfälle bei der experimentellen calcipriven Tetanie der Ratte lassen sich durch eine nach der Citratinjektion erfolgte Butazolidingabe unterdrücken. Bei Applikation des Butazolidins vor der Citratinjektion treten die Anfälle in ihrer Häufigkeit zwar vermindert, aber zeitlich früher auf. Eine Dauermedikation über 14 Tage hat keinen Einfluß.

3. Die negativ-inotrope Wirkung des Calcium-Mangels auf das Myokard des Frosches läßt sich durch Butazolidin nicht beeinflussen. Butazolidin zeigt darüber hinaus eine geringe eigene negativ-inotrope Wirkung.

4. Am monophasischen Aktionspotential des Purkinje-Fadens (Hund) hebt es den Effekt des Calciummangels weitgehend auf.

5. An der motorischen Endplatte führt Butazolidin wie Calcium zur Amplitudenzunahme des durch Magnesium reduzierten Endplattenpotentials durch präsynaptische Einwirkung. Daneben führt es zu einer Steigerung der Frequenz der spontanen „Miniatur-Endplattenpotentiale", die bei Calciumgabe nicht auftritt.

6. Eine Beeinflussung der Zellmembraneigenschaften durch Butazolidin wird diskutiert.

Literatur

[1] Baust, W.: Klin. Wschr. (im Druck).
[2] Baust, W., Th. Fischer u. H. Schaefer: Arzneimittel-Forsch. (im Druck).
[3] Bomskow, C.: Hormonforschung, Bd. I, Leipzig 1937.
[4] Burns, J. J., T. Chenkin, A. Goldmann, A. Schulert and B. B. Brodie: J. of Pharmacol. **109**, 346 (1953).
[5] de Burgh Daly, I., and A. J. Clark: J. of Physiol. **54**, 367 (1921).
[6] del Castillo, J., and L. Engbaek: J. of Physiol. **124**, 370 (1954).
[7] del Castillo, J., and B. Katz: J. of Physiol. **124**, 560 (1954).
[8] Fatt, P., and B. Katz: J. of Physiol. **117**, 109 (1952).
[9] Furshpan, E. J.: J. of Physiol. **134**, 689 (1956).
[10] Göpfert, H., u. H. Schaefer: Pflügers Arch. **239**, 597 (1937).
[11] Hiller, J., u. E. Strauss: Medizinische **1951**, 513.

[12] Hodgkin, A.-L., A. F. Huxley and B. Katz: J. of Physiol **116**, 424 (1952).
[13] Hutter, O. F., and W. Trautwein: J. of Physiol. **133**, 610 (1956).
[14] Kraatz, H. G., u. W. Trautwein: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. (im Druck).
[15] Kraatz, H. G., u. W. Trautwein: (in Vorbereitung).
[16] Krüskemper, M. L.: Z. Rheumaforsch. **14**, 180 (1955).
[17] Kuzell, W. C., R. W. Schaffarzick, M. S. Brown and A. E. Mankle: J. Amer Med. Assoc. **149**, 729 (1952).
[18] Literatur bei: v. Rechenberg, H. K.: Butazolidin, Stuttgart 1957.
[19] Trautwein, W., u. K. Zink: Pflügers Arch. **256**, 68 (1952).
[20] Weidmann, S.: J. of Physiol. **129**, 568 (1955).
[21] Wilhelmi, G.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **222**, 169 (1954).

Dr. Walter Baust, Physiolog. Institut der Univ. Heidelberg, Akademiestr. 3